

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI  
STOMATOLOGICKÁ KLINIKA**

**DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**PORUCHY FUNKCÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY PO RADIOTERAPII  
NÁDORŮ HLAVY A KRKU**

PLZEŇ 2015

MUDr. LADISLAV BERNÁT

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI  
STOMATOLOGICKÁ KLINIKA**



## **DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**PORUCHY FUNKCÍ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY PO RADIOTERAPII  
NÁDORŮ HLAVY A KRKU**

**MUDr. LADISLAV BERNÁT**

*ŠKOLITEL: MUDr. DANIEL HRUŠÁK, Ph.D.*

PLZEŇ 2015

## Abstrakt

*Cíle:* Radioterapie je při terapii zhoubných nádorů hlavy a krku hojně využívanou léčebnou modalitou z důvodu poměrně vysoké radiosenzitivity těchto malignit. Zlepšuje léčebné výsledky a umožňuje zachování funkcí a kontinuity tkání. V minulosti byla však prokázána celá řada nežádoucích účinků radioterapie. Protože v ozařovaném poli je velmi často zahrnuta i štítná žláza, jedním z důsledků může být hypothyreóza. Navzdory tomu jsou poruchy funkcí štítné žlázy zřídka uvažovanou komplikací radioterapie. Cílem této retrospektivní studie bylo zjistit četnost thyreopatií (zejména hypofunkce) u pacientů po radioterapii, porovnat hladiny hormonů štítné žlázy u těchto pacientů s hladinami hormonů pacientů z kontrolní skupiny a pokusit se odhadnout vývoj hypothyreózy v čase.

*Materiál a metodika:* Měřením hladin thyreostimulačního hormonu (TSH), volného thyroxinu (FT4) a volného trijodthyroninu (FT3) byly stanoveny thyreoidální funkce u 43 pacientů s nethyreoidálními karcinomy oblasti hlavy a krku léčených radioterapií, eventuálně v kombinaci s jinou léčebnou modalitou. Tato data byla porovnána s hladinou hormonů u 40 kontrolních pacientů léčených pouze chirurgicky.

*Výsledky:* Ve středním čase sledování 34 měsíců po radioterapii byla hypothyreóza diagnostikována u 35 % ozářených pacientů. Při srovnání s kontrolní skupinou byly nalezeny signifikantní rozdíly v hladinách TSH a FT4, rozdíly v hladinách FT3 nebyly statisticky významné. Byla zjištěna korelace mezi hladinami hormonů a časem sledování.

*Závěr:* Výsledky prokazují, že hypothyreóza je častým pozdním nežádoucím účinkem radioterapie v oblasti hlavy a krku. Doživotní monitorace funkcí štítné žlázy se jeví jako plně indikovaná u všech pacientů, u kterých byla radiační terapie součástí léčebného protokolu.

## Abstract

*Objectives:* Radiation therapy is often applied to patients with head and neck cancer because of a high sensitivity to these cancers. It improves treatment outcomes and permits the preservation of functions and physical form. However, it has been shown that various complications can result from radiation therapy. Hypothyroidism can be one of them as the thyroid gland is frequently included in radiation fields. In spite of that, thyroid hypofunction is not commonly considered a complication of radiotherapy for head and neck cancer. The purpose of this retrospective study was to determine the frequency of thyroid dysfunction in patients after radiotherapy, to compare thyroid hormone levels in irradiated patients with control group and to predict development of thyroid hypofunction in time.

*Material and method:* Thyroid function was measured by means of thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4) and free triiodothyronine (FT3) in 43 patients who had nonthyroid head-neck carcinomas treated by radiotherapy or radiotherapy in combination with other treatment modalities. These data were compared with hormone levels of 40 control group patients treated solely by surgery.

*Results:* In median follow-up period 34 months after radiation, hypothyroidism was found in 35% of irradiated patients. In comparison with control group there were significant differences between TSH and FT4 levels, difference between FT3 levels was insignificant. A correlation between hormone levels and follow-up was detected.

*Conclusion:* Our results indicate that hypothyroidism is a frequent late side effect of radiotherapy to head and neck. Lifelong monitoring of thyroid function appears to be justified when radiotherapy is a part of treatment protocol.

## **Předmluva**

Předkládaná dizertační práce „Poruchy funkcí štítné žlázy po radioterapii hlavy a krku“ je součástí doktorského studijního programu v oboru stomatologie, který jsem na Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Plzni kombinovanou formou zahájil v roce 2006.

Je určena především maxilofaciálním chirurgům, onkologům či radiologům, případně lékařům v ostatních medicínských oborech. Není vhodná pro laickou veřejnost. Jak bývá zvykem, je členěna na část teoretickou a část experimentální. Teoretická část se věnuje obecné problematice nádorů hlavy a krku. Je zde rozebírána epidemiologie, etiologie, patogeneze, diagnostika a terapie tohoto onemocnění, zejména pak radioterapie. Dále jsou diskutovány nežádoucí účinky radioterapie a jejich klinické projevy. Speciální pozornost je pak věnována štítné žláze. V experimentální části je prezentován vlastní výzkum.

Dizertační práce byla samostatně zpracována autorem. Všechny použité prameny v práci jsou řádně citovány, všechna data pocházejí výlučně z vlastního pozorování. Vložené ilustrační obrázky, schémata, tabulky a grafy jsou buď vlastní, nebo převzaté z literatury, opět vždy s uvedením zdroje.

V Plzni dne 5. 1. 2015

MUDr. Ladislav Bernát

# Obsah

<b>1 SEZNAM POUŽÍVANÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ .....</b>	<b>7</b>
<b>2 ÚVOD .....</b>	<b>8</b>
<b>3 CÍLE PRÁCE.....</b>	<b>9</b>
<b>4 TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>10</b>
<b>4.1 CHARAKTERISTIKA NÁDORŮ HLAVY A KRKU .....</b>	<b>10</b>
<b>4.2 EPIDEMIOLOGIE NÁDORŮ HLAVY A KRKU .....</b>	<b>11</b>
<b>4.3 ETIOLOGIE .....</b>	<b>12</b>
4.3.1 TABÁK A ALKOHOL .....	12
4.3.2 HUMAN PAPILOMAVIRUS (HPV).....	12
4.3.2.1 Úvod .....	13
4.3.2.2 Charakteristika pacientů .....	13
4.3.2.3 Charakteristika viru .....	14
4.3.2.4 Patogeneze .....	15
4.3.2.5 Detekce HPV .....	16
4.3.2.6 Prevence HPV infekce .....	17
4.3.3 JINÉ DRUHY ONKOGENNÍCH VIRŮ .....	17
4.3.4 ETIOLOGIE – SHRNUTÍ.....	17
<b>4.4 BIOLOGIE NÁDORŮ HLAVY A KRKU .....</b>	<b>19</b>
4.4.1 LEUKOPLAKIE A ERYTHROPLAKIE .....	19
4.4.2 VLASTNÍ PROCES KANCEROGENEZE.....	19
4.4.2.1 Buněčná proliferace .....	20
4.4.2.2 Programovaná buněčná smrt – apoptóza .....	20
4.4.2.3 Genetické změny – onkogeny, tumor supresorové geny a DNA opravné geny.....	21
4.4.2.4 Časná a pozdní události, invaze a metastazování, imunitní odpověď .....	24
<b>4.5 KLASIFIKAČNÍ SYSTÉMY.....</b>	<b>26</b>
<b>4.6 DIAGNOSTIKA.....</b>	<b>28</b>
4.6.1 RENTGENOVÉ VYŠETŘENÍ.....	28
4.6.2 RADIONUKLIDY .....	28
4.6.3 POZITRONOVÁ EMISNÍ TOMOGRAFIE.....	28
4.6.4 KONTRASTNÍ VYŠETŘENÍ.....	29
4.6.5 ULTRASONOGRAFIE.....	29
4.6.6 POČÍTAČOVÁ TOMOGRAFIE (CT).....	30
4.6.7 MAGNETICKÁ REZONANCE (MAGNETIC RESONANCE IMAGING – MRI) .....	30
<b>4.7 TERAPIE .....</b>	<b>33</b>
4.7.1 CHIRURGICKÁ TERAPIE.....	33
4.7.2 RADIOTERAPIE .....	36
4.7.2.1 Úvod .....	36
4.7.2.2 Klinická aplikace radioterapie .....	36
4.7.2.3 Principy radioterapie, frakcionace .....	37
4.7.2.4 Techniky radioterapie .....	39
4.7.2.5 Plánování radioterapie .....	40
4.7.2.6 Biologické účinky záření .....	41
4.7.2.7 Nežádoucí účinky radioterapie .....	42
4.7.3 CHEMOTERAPIE .....	45
4.7.4 BIOLOGICKÁ LÉČBA.....	46
<b>4.8 PROGNÓZA NÁDORŮ HLAVY A KRKU.....</b>	<b>48</b>
<b>4.9 ŠTÍTNÁ ŽLÁZA .....</b>	<b>49</b>
4.9.1 ANATOMIE.....	49
4.9.2 FYZIOLOGIE.....	49
4.9.2.1 Tvorba hormonů .....	49
4.9.2.2 Transport hormonů .....	51
4.9.2.3 Metabolismus hormonů štítné žlázy .....	51

4.9.2.4	Účinky hormonů štítné žlázy .....	52
4.9.3	STANOVENÍ HORMONŮ ŠTÍTNÉ ŽLÁZY .....	53
<b>4.10</b>	<b>HYPOTHYREÓZA .....</b>	<b>56</b>
4.10.1	PŘÍZNAKY HYPOTHYREÓZY .....	56
4.10.2	TERAPIE HYPOTHYREÓZY .....	58
<b>5</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....</b>	<b>59</b>
<b>5.1</b>	<b>ÚVOD .....</b>	<b>59</b>
<b>5.2</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA .....</b>	<b>60</b>
5.2.1	MATERIÁL .....	60
5.2.2	METODIKA .....	61
5.2.3	STATISTICKÉ ZPRACOVÁNÍ .....	61
<b>5.3</b>	<b>VÝSLEDKY.....</b>	<b>62</b>
<b>5.4</b>	<b>DISKUZE .....</b>	<b>68</b>
<b>5.5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>71</b>
<b>6</b>	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>72</b>
	<b>PODĚKOVÁNÍ.....</b>	<b>91</b>

# 1 Seznam používaných zkratek a symbolů

- bFGF** – bazický fibroblastový růstový faktor  
**CDK** – cyklin dependentní kináza  
**CRP** – C-reaktivní protein  
**CT** – počítačová tomografie  
**DIT** – diiodthyronin  
**DNA** – deoxyribonukleová kyselina  
**EBV** – virus Ebstein-Barrové  
**EGFR** – epidermální růstový faktor  
**FT3** – volný trijodthyronin  
**FT4** – volný thyroxin  
**HPV** – lidský papilloma virus  
**HSV** – herpes simplex virus  
**CHART** – kontinuální hyperfrakcionovaná akcelerovaná radioterapie  
**IMRT** – radioterapie s modulovanou intenzitou svazku  
**MHC** – hlavní histokompatibilní komplex  
**MIT** – monojodthyronin  
**MRI** – magnetická rezonance  
**PCR** – polymerázová řetězová reakce  
**PDGF** – destičkový růstový faktor  
**rT3** – reverzní trijodthyronin  
**TAG** – triacylglycerol  
**TBG** – tyroxin vázající globulin  
**TBII** – imunoglobulin blokující thyreotropinový receptor (thyrotropin binding inhibitory imunoglobulin)  
**TBPA** – transthyretin (tyroxin vázající prealbumin)  
**TgAb** – protilátky proti thyreoglobulinu  
**TNF** – tumor nekrotizující faktor  
**t-PA** – tkáňový aktivátor plazminogenu  
**TPO** – thyroidální peroxidáza  
**TPOAb** – protilátky proti thyroidální peroxidáze  
**TSH** – thyreostimulační hormon (thyreotropin)  
**TSHRAb** – protilátky proti TSH receptorům  
**TSI** – thyroideu stimulující imunoglobulin  
**TT3** – volný trijodthyronin  
**TT4** – volný thyroxin

## 2 Úvod

Radioterapie je společně s chirurgickou léčbou základní lokoregionálně působící modalitou onkologické terapie. Obě dvě léčebné metody mají u malignit oblasti hlavy a krku kurativní potenciál, komplementárně se doplňují a nelze je tedy považovat za kompetitivní. V řadě případů se nemůžeme obejít bez jejich vhodné kombinace. Na rozdíl od chemoterapie však žádná z nich nepostihuje vzdálený nádorový rozsev, na druhou stranu cytostatická léčba sama o sobě v orofaciální oblasti kurativní není.

Cílem radikální radioterapie je aplikovat nádorovou letální dávku do přesně určeného cílového objemu. Ideálním výsledkem je pak kompletní eradikace nádoru při současném minimálním funkčním a strukturálním poškození zdravých tkání. Ve většině případů je aplikovaná tumoricidní dávka na hranici toleranční dávky okolních zdravých tkání, z čehož vyplývá celá řada nežádoucích účinků radioterapie.

Při aktinoterapii nádorů orofaciální oblasti se společně s primárním tumorem ozařuje i regiolymfatický systém. Pro úzkou topografickou intimitu s hlubokým krčním lymfatickým systémem je štítná žláza nebo její část často součástí ozařovaného pole, technicky není možné se jí vyhnout. Výsledná hypothyreóza je, navzdory tomu, málo uvažovanou komplikací radiační terapie.



### 3 Cíle práce

Cílem teoretické části předkládané práce je zmapovat recentní poznatky o nádorech v oblasti hlavy a krku, včetně souhrnu epidemiologických dat, etiologie, patogeneze, biologického chování, diagnostiky a léčebných možností tohoto onemocnění se zaměřením na využití radiační terapie. Podrobně budou rozebrány současné techniky a trendy radioterapie. Důraz bude kladen na nežádoucí účinky této léčebné modality, obzvláště pak ve vztahu ke štítné žláze.

V rámci vlastního experimentu jsme si stanovili následující úkoly:

- zjistit četnost hypothyreózy v souboru pacientů, u kterých byla radioterapie součástí léčebného protokolu,
- porovnat hladiny hormonů štítné žlázy u těchto pacientů s hladinami hormonů pacientů z kontrolní skupiny,
- pokusit se odhadnout vývoj hypothyreózy v čase.

## 4 Teoretická část

### 4.1 Charakteristika nádorů hlavy a krku

Nádory hlavy a krku je tradičně užívaný název pro skupinu novotvarů, které spojuje jejich topografická blízkost, ale které jsou značně heterogenní. Řadí se mezi ně nádory horního aerodigestivního traktu, to jest rtu, dutiny ústní a jazyka, dutiny nosní a paranasálních sinů, nádory nasofaryngu, orofaryngu, hypofaryngu, laryngu, a dále pak nádory slinných žlaz. Zatímco z benigních tumorů se v těchto lokalitách poměrně často vyskytují nádory mezenchymálního původu (např. fibrom, lipom, hemangiom, osteom, chondrom, myom), jednoznačně nejčastějšími malignitami jsou dlaždicobuněčné karcinomy, zaujímající více než 85 % zhoubných novotvarů v oblasti hlavy a krku [231]. Z histogeneticky odlišných malignit se zde relativně často vyskytují maligní lymfomy a uzlinové metastázy různých solidních nádorů ze vzdálených oblastí, například karcinomu prsu, ovaria, varlat atd. Relativně vzácné jsou sarkomy a nádory z neuroektodermu [177].

Výše zmíněné anatomické struktury jsou jednak kosmeticky exponované, ale také funkčně významné lokality, zejména z hlediska řeči, dýchání, polykání, chuti a čichu. Z tohoto důvodu může mít přítomnost nádorů hlavy a krku a jejich terapie negativní dopad na estetiku i funkci a celkově tak snižovat kvalitu života nemocných. Léčebné strategie proto většinou vychází z komplexního plánu, který bere do úvahy efektivitu terapie, pravděpodobnost přežití a potenciální ovlivnění morfolgie, funkce a kvality života.

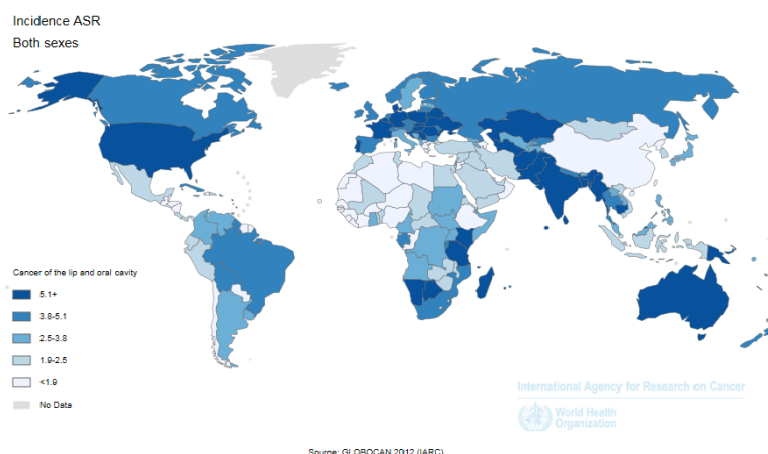
## 4.2 Epidemiologie nádorů hlavy a krku

Zhoubné nádory hlavy a krku jsou celosvětově šestým nejčastějším maligním onemocněním [255]. Ročně je diagnostikováno zhruba 640 000 nových případů, mortalita je přibližně 350 000 za rok. V roce 2030 předpokládá Světová zdravotnická organizace smrtelnost dokonce 595 000 jedinců za rok [225]. Nejčastější ze všech malignit hlavy a krku jsou nádory dutiny ústní a hltanu s incidencí okolo 480 000 za rok, pro nádory hrtanu se ročně udává asi 160 000 nových onemocnění [255]. Mezi evropskou populací je přibližná incidence 132 000 za rok. 91 900 z těchto nově diagnostikovaných malignit zaujímají novotvary dutiny ústní a hltanu, 40 400 pacientů onemocní nádorem hrtanu. Roční úmrtnost v Evropě je asi 62 800 [90].

Výskyt nádorů hlavy a krku vykazuje značné geografické rozdíly. Obecně je velmi vysoký v jižní Asii a některých oblastech střední a jižní Evropy [42]. I ve vztahu ke konkrétní anatomické lokalitě existují místní specifika. Například rakovina rtu a dutiny ústní je vůbec nejčastější malignitou v zemích jižní Asie, jako jsou Srí Lanka, Indie, Pakistán a Bangladéš (obr. 1). Česká republika byla v této diagnóze v roce 2009 na 46. místě celosvětového žebříčku; uvádí se přibližně 4,9-5,5 případů onemocnění na 100 000 obyvatel [89, 234]. Naproti tomu v Číně, Malajsii, Indonésii, Singapuru a jiných státech jihovýchodní Asie je nejčastějším nádorem nazofaryngeální karcinom [157]. Zde Česká republika zaujímala v roce 2009 112. místo.

Novotvary hlavy a krku jsou dvakrát až patnáctkrát častější u mužské populace, opět v závislosti na konkrétní anatomické lokalitě [89, 225]. Soudobé epidemiologické studie nicméně naznačují rostoucí trend výskytu u žen, zatímco incidence u mužů klesá [69]. Vysvětlením může být zvyšující se abúzus alkoholu a kouření mezi ženami.

Ačkoliv v současné době v západních populacích přibývá karcinomů hlavy a krku vyvolaných papilomavirem (HPV), s čímž souvisí narůstající postižení mladších jedinců [157], nadále v Evropě zůstává 50 % jedinců s touto diagnózou starších 40 let a 98 % jedinců starších 60 let [42].



**Obr. 1. Celosvětová distribuce věkově standardizované incidence (ASR) nádorů rtu a dutiny ústní. Barevná škála schematicky znázorňuje počty nových případů za rok na 100 000 obyvatel (Převzato: Ferlay a kol., 2013)**

## 4.3 Etiologie

Hovoříme-li o příčinných faktorech nádorů hlavy a krku, máme na mysli karcinomy, které jsou ze zhoubných nádorů daleko nejčastější. Na rozdíl od ostatních malignit se v jejich etiologii v hojné míře uplatňují zevní vlivy, což bylo v minulosti mnohokrát prokázáno.

Významnými rizikovými faktory pro vznik nádorů hlavy a krku jsou kouření a abúzus alkoholu, souvisí s nimi až 80 % tumorů dutiny ústní a laryngu. Kouření marihuany je přitom rizikovější než kouření tabáku, marihuanový kouř obsahuje až o 50 % vyšší koncentraci benzpyrenu [1]. Nezanedbatelný je podíl biologických etiologických faktorů – virů. Zvýšené riziko rozvoje nádoru může být také spojeno se špatnou kvalitou zubních protéz a nedostatečnou ústní hygienou. Dřevný prach (tanin) má význam při vzniku adenokarcinomů dutiny ústní a paranazálních dutin. Karcinogenní látky v zaměstnání (nikl, chrom, olovo, azbest, fluor, arzén, uhlovodíky v sazích, dehtu a průmyslových olejích) mohou vznik nádorů hlavy a krku provokovat také. Ionizující záření indukuje vznik nádorů slinných žláz [1, 177].

### 4.3.1 Tabák a alkohol

Jako nezávislý rizikový faktor při vzniku orální a orofaryngeální rakoviny bylo označeno kouření cigaret poprvé v roce 1957 [382]. Později byla potvrzena škodlivost konzumpce i jiných forem tabákových produktů, kupříkladu kouření doutníků, dýmek, šňupání a žvýkání tabáku. Společně s požíváním alkoholu je tak tabák hlavním rizikovým faktorem v etiologii nádorů hlavy a krku [46, 100, 151, 212]. Mnoho studií prokázalo pozitivní korelaci mezi rizikem vzniku malignity a celkovou dávkou tabáku a alkoholu [196, 335]. Oba faktory mají přitom navzájem spíše multiplikativní než aditivní vztah [31, 57, 65, 196, 253, 335].

Přestože většina případů nádorových onemocnění v oblasti hlavy a krku je spojena s abúzem nikotinu a alkoholu, ve studii Llewellyna a kol. [208] bylo 25 % pacientů ve věku 45 let a méně celoživotními abstinenty. Z jiných studií vyplývá, že nemocní postižení hlavo-krkovou malignitou, kteří nemají v anamnéze kouření a pití alkoholu, jsou primárně ženského pohlaví a predilekčně je postižena dutina ústní, zatímco u kuřáků a konzumentů alkoholu jsou častější spíše karcinomy hrtanu a hypofaryngu [183, 375]. Na základě těchto zjištění byl navržen odlišný patofyziologický mechanismus rozvoje onemocnění u abstinentů a abuzérů.

### 4.3.2 Human papillomavirus (HPV)

V nedávných letech byla v USA zaznamenána mírně klesající tendence v incidenci nádorů hlavy a krku související se sníženým počtem kuřáků v populaci, což je přičítáno agresivním kampaním proti kouření. Tento pozitivní trend je však kompenzován zvýšeným výskytem orofaryngeální rakoviny u mladých nekuřáků a abstinentů mužského pohlaví [55, 104, 298]. Pozornost se tak v dnešní době upíná na jiné etiologické faktory, hlavně na lidský papilloma virus (HPV). Z tohoto důvodu se této problematice věnujeme poněkud podrobněji.

#### 4.3.2.1 Úvod

Lidský papillomavirus (HPV) je relativně malý virus, který specificky osidluje bazální buňky epitelu [392]. Jeho úloha v kancerogenezi byla poprvé zmíněna v 70. letech 20. století, kdy byl naznačen jeho kauzativní vztah ke vzniku rakoviny čípku děložního, v roce 1983 byla popsána souvislost se vznikem karcinomů hlavy a krku [330]. Do dnešní doby bylo popsáno asi 150 subtypů HPV, které se klasifikují číselně podle typu infikovaných epitelových buňek [162]. Například typ HPV 1 napadá buňky epitelu kůže, zatímco typy 6, 11, 16 a 18 infikují buňky slizničního epitelu dutiny ústní, orofaryngu, anogenitálního traktu a děložního čípku [270]. Podle schopnosti realizovat buněčnou transformaci se HPV viry rozdělují na nízko-rizikové a vysoko-rizikové. Nízko-rizikové typy jsou spojené s benigními lézemi, jako jsou veruky a condylomata, naproti tomu infekce vysoko-rizikovými typy způsobuje rozvoj zhoubného bujení. U malignit hlavy a krku lze detekovat přítomnost HPV infekce až u 95 % nemocných, onkogenní papilloma viry jsou však přítomny pouze u 20-25 %, až v 90 % se jedná o kmen HPV 16 [222, 270]. Nejčastěji virem napadenou lokalitou je orofarynx včetně patrových tonsil a kořene jazyka, dále pak nasofarynx a paranasální dutiny [162]. Jedním z vysvětlení je možnost snadnější invaze viru do bazální vrstvy slizničních krypt v těchto lokalitách [230].

#### 4.3.2.2 Charakteristika pacientů

Ve srovnání s HPV-negativními jsou HPV-pozitivní pacienti s rakovinou hlavy a krku častěji vzdělaní mladší jedinci bílé rasy z vyšších socioekonomických vrstev s menším sklonem k abúzu tabáku a alkoholu, jak naznačují výsledky četných studií [16, 37, 98, 113, 140, 180, 183, 204, 235, 238, 314, 316]. Na rozdíl od HPV-negativních karcinomů je prognóza i léčebná odpověď nemocných s HPV-dependentním typem nádoru lepší [12, 86, 269, 290]. Naopak kombinace HPV infekce s kouřením a konzumpcí alkoholu potencuje vzniku nádoru a přispívá k jeho horší prognóze [306].

Bylo též prokázáno, že diagnóza HPV-dependentní anogenitální rakoviny zvyšuje riziko vzniku karcinomů hlavy a krku [28, 102, 137, 268]. Existují studie, které se pokoušely nalézt korelaci mezi výskytem HPV-dependentních karcinomů hlavy a krku a konkrétním typem sexuálních praktik. Větší prevalence tohoto onemocnění byla nalezena u osob často se oddávajících vaginálnímu a orálnímu sexu, osob promiskuitních, neužívajících kondom a u osob s časným zahájením sexuální aktivity [71, 315]. Jiná recentní studie prokázala závislost mezi užíváním marihuany a výskytem HPV karcinomů hlavy a krku; se stoupající dávkou marihuany se zároveň zvyšovala prevalence výskytu těchto nádorů. U non-HPV karcinomů nebyl tento trend pozorován [113]. Základní odlišnosti v etiologii, demografickém pozadí, etiologii a klinické charakteristice HPV-pozitivních a HPV-negativních karcinomů hlavy a krku jsou shrnuty v následující tabulce (tab. 1).

**Tabulka 1. Důležité rozdíly v epidemiologii, demografickém pozadí, molekulární etiologii a klinické charakteristice u HPV-pozitivních a HPV-negativních dlaždicobuněčných karcinomů hlavy a krku.**  
(Převzato: Joseph and Pai, 2011)

	HPV-pozitivní karcinomy hlavy a krku	HPV-negativní karcinomy hlavy a krku
<b>Epidemiologie</b>		
Incidence	Vzrůstající	Klesající
<b>Demografické pozadí</b>		
Věk	Mladší	Starší
Socioekonomický status	Vyšší	Nižší
Rizikové faktory	Vysoce rizikové sexuální praktiky, užívání marihuany	Abúzus tabáku a alkoholu
<b>Molekulární etiologie</b>		
p53 dráha	E6-zprostředkovaná degradace p53	Mutace genu pro p53
Rb dráha	E7-zprostředkovaná degradace Rb	Ztráta heterozygoty na 17p; hypermethylace p16 <sup>INK4A</sup>
p16 exprese	Zvýšená exprese	Snížená exprese
<b>Klinická charakteristika</b>		
Lokalizace primárního tumoru	Oropharynx (patrové a jazykové tonzily)	Všechny lokality
Prognóza	Lepší	Horší
Léčebná odpověď na radiochemoterapii	Lepší	Horší
Riziko recidivy	Nižší	Vyšší

### 4.3.2.3 Charakteristika viru

HPV jsou relativně malé viry s neobalenou ikosahedrální kapsidou o průměru 52-55 nm, která je tvořena 72 pentamerickými, penta- nebo hexavalentními kapsomerami v ikosahedrálním uspořádání, každá kapsomera je tvořena dvěma kapsidovými proteiny – majoritním L1 o velikosti 55 kDa a minoritním L2 o velikosti 70 kDa. Genom papillomavirů tvoří cirkulární dvouřetězcová DNA o velikosti přibližně 8000 párů bazí, která s buněčnými histonovými proteiny vytváří tzv. nukleozomy, jež jsou strukturně blízké jadernému chromatinu. U všech papillomavirů má genom v zásadě podobnou stavbu. Obsahuje otevřené čtecí rámce (ORF) pro tzv. časné geny (early; *E*) a pozdní (late; *L*) geny. Kromě toho obsahuje nekódující oblast, synonymně též upstream regulatory region (URR) nebo také long control region (LCR) [184]. Všechny tyto součásti hrají roli ve virové replikaci, transkripci a kancerogenezi. Časné (*E*) geny kódují proteiny řady E. Proteiny E1 a E2 regulují replikaci viru a také expresi ostatních časných genů viru. U vysoko-rizikových subtypů HPV jsou považovány za onkogenní zejména proteiny E6 a E7 díky svým transformačním a růstově-stimulačním vlastnostem. Tyto proteiny mají schopnost potlačovat tumor supresorové funkce svojí vazbou na proteiny p21, p53 a pRb, což vyúsťuje v inhibici apoptózy a DNA oprav, ztrátě kontroly buněčné proliferace a imortalizaci buňky [40, 147, 240]. Otevřené čtecí rámce pro pozdní (*L*) geny kódují majoritní (L1) a minoritní (L2) kapsidový protein a jsou přepisovány pouze u účinně infikovaných buněk. Protein L1 je zodpovědný za vazbu na buňku a tvorbu struktury virionu, jeho C-koncová doména má funkci interpentamerního linkeru, zatímco L2 protein je

zodpovědný za vazbu virové DNA při syntéze virionu. L1 protein je vysoce sekvenčně konzervativní, proto se používá (případně ještě s geny *E6*, *E7* nebo *E2*) pro porovnání jednotlivých typů a variant papillomavirů. Má dispozici vytvářet pseudopartikule, to jest prázdné partikule strukturně podobné partikulím složeným z obou kapsidových proteinů. Nekódující oblast (LCR nebo také URR) obsahuje vazebná místa pro E2 a E1 proteiny, které aktivují transkripci virového genomu. Na základě kompetice s TATA vazebným proteinem a v závislosti na umístění na vazebném místě promotoru P<sub>97</sub> může E2 fungovat i jako represor transkripce genů *E6* a *E7* [323].

#### 4.3.2.4 Patogeneze

Drobná slizniční traumata fungují jako vstupní brána infekce do bazální vrstvy epitelu [358]. Jednotlivé viriony invadují progenitorové buňky keratinocytů, jež jsou tak hlavním cílem papillomavirové infekce [326]. Podle poznatků o cervikálním karcinomu (karcinomu děložního hrdla) je pro vznik nádoru stěžejní perzistující infekce vysoko-rizikovým subtypem viru [34, 35, 304, 391]. Linearizace cirkulárního genomu HPV a jeho integrace do chromozomu hostitelské buňky nastává obvykle až v pozdní fázi, například u pokročilých prekanceróz a většiny invazivních karcinomů. [68, 148, 264]. Do genomu hostitele se HPV integruje náhodně, avšak predilekčně poblíž fragilních lokusů chromozomů [369]. Zároveň při integraci dochází k přerušení *E1/E2* sekvence DNA virového genomu. Tímto přerušením se potlačí represe onkogenů viru, což vyústí v nadměrnou expresi (overexpresi) E6 a E7, která vede ke změnám v klíčové tumor supresorové dráze. Overexpresi E6 a E7 je charakteristickým znakem cervikálních nádorů a zodpovídá za jejich maligní fenotypizaci [158]. Otevřený čtecí rámec *E5* je replikován v epizomální formě, po integraci je jeho genová sekvence většinou smazána [75, 392]. Soudí se tedy, že *E5* má význam v časných stádiích virové infekce a pro udržení maligního potenciálu není zcela zásadním onkogenem. Bylo nicméně prokázáno, že protein E5 má schopnost stimulovat růst buňky prostřednictvím aktivace epidermálního růstového faktoru (EGFR), jenž spouští kaskádu vedoucí k overexpresi protoonkogenů, a dále také stimulovat buněčný cyklus [347].

Růstově-stimulační účinky proteinu E6 se uskutečňují různými mechanismy. Spojením s jiným buněčným proteinem E6-AP vytváří komplex E6/E6-AP, který se váže na p53 a ovlivňuje tak molekulu pro degradaci proteozomů [302, 370]. Inhibice funkce p53 proteinu se v buňkách projeví deficientní apoptózou a defektní kontrolou ve fázi G1/S u buněk s poškozenou DNA. To vede k poruchám regulace buněčného cyklu, eventuálně také k nestabilitě chromozomů infikovaných buněk [168, 372]. E6/E6-AP komplex taktéž zabraňuje ubiquitinizaci a degradaci tyrosin kinázy Blk z rodiny Src a stabilizací aktivní formy této kinázy tak podporuje mitotické dělení buňky [252]. E6 protein subtypu 16 HP viru dále ovlivňuje celou řadu dalších buněčných regulátorů [216, 239]. Jde například o signální transdukční protein paxillin, reverzní telomerázovou transkriptázu (hTERT), onkoprotein Myc, interferonový regulační faktor 3 (IRF3), transaktivátor interferonů nebo reparační protein pro jednovláknovou DNA XRCC1 [154, 179, 274, 280, 343].

E7 protein se váže na tumor supresorový protein pRb prostřednictvím ubiquitinu [40]. Destabilizace pRb způsobuje uvolnění E2F z pRb/E2F komplexu. To umožňuje transkripčnímu regulátoru E2F transaktivovat geny S-fáze. Funkční inaktivace pRb proteinem E7 vede k overexpresi inhibitoru cyklin-dependentní kinázy p16<sup>INK4a</sup> [169]. Zvýšená exprese p16<sup>INK4a</sup> je tak jedním z markerů HPV infekce. Formováním komplexů s cykliny A a E získává E7 kinázovou aktivitu [13, 229], která má pravděpodobně vliv na buněčnou hyperproliferační. Podobně jako E6 protein i E7 ovlivňuje další

buněčné regulátory, například transkripční faktor Jun [249], proteiny vázající se na TATA box [224], p21 a p27 inhibitory cyklin dependentní kinázy, které indukují buněčnou proliferaci [388].

Bylo prokázáno, že onkoproteiny E6 a E7 se podílí na destabilizaci celého genomu buňky [372]. Recentní studie naznačují, že u buněk napadených HPV, které exprimují E6 a E7, se vytvářejí defekty v rozdělení chromozomů díky numerickým abnormalitám centrozomů. Přítomnost multipolárních dělicích vřetének je tak považována za charakteristický znak HPV-dependentních nádorů hrdla děložního [79, 80].

Imunitní odpověď na HPV infekci zahrnuje buněčnou i humorální složku. Buněčná imunitní odpověď se zdá být důležitá při kontrole infekce. Důkazem je zvýšený výskyt HPV malignit u osob s deficientní buněčnou imunitou, např. HIV pozitivních či pacientů po autotransplantaci [48, 103]. Sérové protilátky proti kapsidovým proteinům viru se považují za marker prodělané infekce a poskytují ochranu proti reinfekci [56, 175]. Experimentální pasivní transfer séra z myši vakcinovaných virovými partikulami do myši bez předchozí vakcinace vyvolá imunitní odpověď [219]. Protilátky proti E6 a E7 proteinům vysoko-rizikových kmenů HPV se využívají jako biomarker invazivního HPV tumoru [106, 215, 233, 308, 322]. Senzitivita a specificita těchto vyšetření je však nízká. Samotná seropozitivita nemusí nutně znamenat přítomnost HPV karcinomu [56, 141] a zdaleka ne všichni pacienti s HPV karcinomem jsou seropozitivní (pouze asi 50-60 %). Přesto byla asociace mezi přítomností protilátek a vznikem karcinomu hlavy a krku mnohokrát potvrzena [130, 132, 140, 314].

#### 4.3.2.5 Detekce HPV

Doposud nebyl doporučen univerzální test, který by představoval zlatý standard pro klinické testování na přítomnost HPV. Specializované laboratoře využívají různých metod. Asi nejpoužívanější z nich je polymerázová řetězová reakce PCR. Materiál se získává stěrem z dutiny ústní. Použitím HPV-specifických DNA primerů lze tímto testem určit přítomnost vysoko-rizikového kmene 16. Nevýhodou je možnost kontaminace DNA z okolního prostředí. Dalším limitem je, že neposkytuje informaci o distribuci virové DNA v tkáni a také nemá schopnost rozlišit mezi virem integrovaným do buňky a epizomální formou viru. Právě tyto skutečnosti jsou ve vztahu ke kauzalitě podstatné. Pozitivita testu PCR tak není indikátorem přítomnosti HPV tumoru. Definitivní diagnózu lze vyslovit až na základě exprese virových onkogenů v nádorových buňkách [162]. K tomu slouží další testy. Často využívanou metodou je hybridizace in situ využívající značených DNA sond, které jsou komplementární k úsekům DNA HP viru v nádorové tkáni fixované v parafinových bločcích nebo hluboce zmrazené. Používají se kmenově specifické DNA sondy. Výsledky hybridizace se pod mikroskopem korelují s cytologií nádoru, což je výhoda oproti PCR. Kromě toho lze zesílením signálu značně zvýšit senzitivitu testu [311]. Dalším možným způsobem detekce viru je imunohistochemický test na přítomnost výše zmíněného inhibitoru cyklin dependentní kinázy p16<sup>INK4a</sup>. Udávaná senzitivita testu je 100 %, specificita 79 % [313]. Ve snaze eliminovat slabé stránky jednotlivých metod se v poslední době v některých laboratořích využívá kombinace hybridizace in situ a imunohistochemie. V prvním kroku se využívá vysoké senzitivity imunohistochemické detekce p16<sup>INK4a</sup> k identifikaci všech HPV pozitivních nádorů. Ve druhé fázi vysoká specificita hybridizace in situ odhalí falešně pozitivní vzorky z imunohistochemického testu [162].



#### **4.3.2.6 Prevence HPV infekce**

Primární preventivní opatření spočívají především v omezení rizikového sexuálního chování. Přislíbem do budoucna mohou být i u HPV-dependentních karcinomů hlavy a krku různé vakcinační strategie. Americká organizace Food and Drug Administration (FDA) doposud schválila dva druhy vakcíny proti HPV – Gardasil a Cervarix. Gardasil je kvadrivalentní vakcína proti subtypům 6, 11, 16 a 18, v Čechách se prodává pod názvem Silgard. Cervarix je bivalentní preparát působící pouze proti onkogenním kmenům 16 a 18. U karcinomů hrdla děložního je vakcinace účinná před první expozicí HPV, její indikace se vymezují pouze na prevenci HPV infekce. Je doporučována pro úzkou věkovou skupinu žen od 9 do 26 let a/nebo před prvním sexuálním stykem. V roce 2009 schválil úřad FDA použití Gardasilu u mužů jako prevenci genitálních bradavic. V roce 2010 byly indikace rozšířeny na anogenitální rakovinu. Klinická studie, která by prokázala účinnost těchto vakcín v prevenci orofaryngeální rakoviny, zatím neexistuje. Jak již ale bylo řečeno, využití vakcín i v této oblasti skýtá slibné možnosti. Přinejmenším vakcíny navozují vysoké titry protilátek proti HPV 16 v séru a mohou tak zmírňovat promoření populace [162].

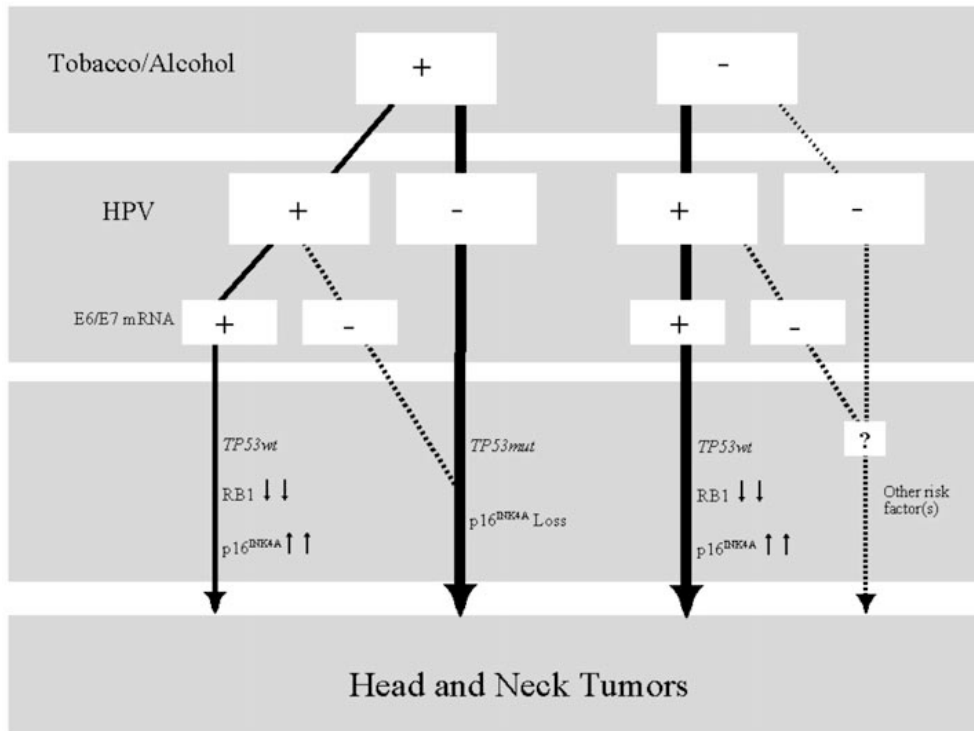
#### **4.3.3 Jiné druhy onkogenních virů**

V etiologii dlaždicobuněčných karcinomů hlavy a krku se zkoumají i jiné viry, především herpes simplex virus 1 (HSV 1) a virus Epstein-Barrové (EBV). V některých z těchto karcinomů byla prokázána přítomnost RNA komplementární k DNA viru HSV 1 [82]. Četné studie v minulosti také potvrdily zvýšené hladiny protilátek proti HSV u pacientů s karcinomem hlavy a krku. Tak jako u cervikálních karcinomů i na poli orální kancerogeneze se uvažuje o součinnosti mezi HPV a HSV [288].

Závěry prací, které zkoumaly DNA EB viru v orálních karcinomech, jsou protichůdné. Některé našly EBV receptory bez integrace viru do genomu [334], jiné udávají výskyt virové DNA až ve 35 % nádorových buněk [217]. Virus EB je konstantně přítomen v orofaryngu [38]. Ačkoliv je dobře dokumentovaná jeho souvislost s karcinomem nazofaryngu, jeho úloha při vzniku intraorální rakoviny nebyla prokázána.

#### **4.3.4 Etiologie – shrnutí**

Recentní poznatky podporují hypotézu, že karcinomy hlavy a krku jsou multifaktoriálním onemocněním, na jehož genezi se podílejí nejméně dvě různé dráhy – první souvisí s konzumpcí tabáku a alkoholu, druhá pak s HPV infekcí (obr. 2).



**Obrázek 2. Multifaktoriální model vzniku karcinomů hlavy a krku. Karcinomy hlavy a krku spojené s užíváním tabáku a alkoholu jsou predominantně HPV-negativní. V rámci této skupiny však existuje podskupina HPV-pozitivních tumorů, kde HPV může a nemusí hrát v kancerogenezi roli (podle toho, zda nádor exprimuje virové onkogeny E6 a E7). Naproti tomu ve skupině pacientů neužívajících tabák ani alkohol se mohou vyskytovat i HPV-negativní karcinomy. Virus plní funkci hlavního karcinogenu pouze v těch nádorech, které exprimují onkogeny E6 a E7, v ostatních nádorech se uplatňují jiné rizikové faktory.**  
(Převzato: Ragin a kol., 2007)

## 4.4 Biologie nádorů hlavy a krku

Některým dlaždicobuněčným karcinomům hlavy a krku předcházejí typické epiteliální léze, které se považují za potenciálně maligní a označují se jako prekancerózy. Vznik prekanceróz je spojen se stejnými etiologickými faktory jako vznik karcinomů a pokud jsou prekancerózy přítomny dostatečně dlouhou dobu, podléhají maligní transformaci. Při histologickém vyšetření mají prekancerózy podobné morfologické rysy jako malignity, avšak nejeví známky invaze. Jiné karcinomy vznikají na klinicky normální sliznici de novo [318]. V Indii například vzniká téměř 100 % malignit na podkladě bílých či červených nemaligních lézí, v západním světě je to pouze asi polovina [33].

### 4.4.1 Leukoplakie a erythroplakie

Leukoplakie je bílá léze, kterou nelze setřít a nelze ji klinicky ani patologicky definovat jako žádnou jinou chorobu [15]. Je všeobecně považována za nejčastější potenciálně maligní lézi dutiny ústní. Udává se, že u 2 % bílých lézí je v době diagnózy již prokázán karcinom in situ nebo invazivní karcinom [223] a 4-6 % bílých lézí se časem může maligně zvrhnout [161]. Leukoplakie vznikají dvojím způsobem. Buď následkem poruchy diferenciaci a maturace orálního epitelu, typicky u nekuřáků, nebo jako reaktivní fenomén následkem kouření. Větší riziko maligní transformace je u leukoplakií vznikajících u nekuřáků, zatímco reaktivní leukoplakie jsou do jisté míry reverzibilní procesy. Leukoplakie nodulární a verukózní jsou nebezpečnější než homogenní leukoplakie, zejména jsou-li lokalizovány na spodině dutiny ústní [123, 131].

Červené léze (erythroplakie) s granulárním nebo sametovým vzhledem mají též vysoký maligní potenciál. U většiny z nich jsou přítomné dysplastické změny, až 50 % je v době detekce histologicky klasifikováno jako karcinom in situ nebo dokonce invazivní karcinom. Přítomnost dysplazie v prekurzorových lézích zásadně zvyšuje riziko vzniku karcinomu. Podle Silvermana a kol. [309] se karcinomy dutiny ústní vyvinou u 15,7 % pacientů bez dysplastických změn epitelu a u 36,4 % s dysplazií. Právě dysplazie přítomná u dostatečně velké populace buněk se pokládá za nejčasněji rozpoznatelné stádium rakoviny.

### 4.4.2 Vlastní proces kancerogeneze

Rakovina je multifaktoriální onemocnění, na jehož etiologii se podílejí chemické, fyzikální a biologické vlivy. Ty vedou k poruše kontroly buněčného růstu. Změny v interakcích mezi buňkami a okolním prostředím následně přispívají k invazivitě a metastazování karcinomů [33]. Porozumění principům buněčné kontroly je předpokladem pro pochopení maligního procesu. Buněčný růst je regulován specifickými signály, které stimulují nebo inhibují proliferaci buněk. Rovnováha těchto procesů může být narušena následkem kumulace genetických abnormalit. Současné teorie navrhují minimálně 6-10 genetických odchylek nutných ke vzniku a rozvoji karcinomů hlavy a krku, uplatňují se nejméně 4 skupiny genů. Jsou to onkogeny, tumor supresorové geny, DNA opravné geny a sekvence, které kontrolují programovanou buněčnou smrt a apoptózu [134, 273]. Za normálních okolností rovnovážná exprese těchto genů reguluje buněčnou proliferaci a diferenciaci. Nerovnováha může vyústit ve zvýšenou proliferaci nebo v nedostatečnou apoptózu. Jestliže se zároveň objeví další abnormality, které nejsou eliminovány systémem DNA oprav, vzniká maligní proces. Udržení

homeostázy mezi buněčnou proliferací a buněčnou smrtí či apoptózou je tedy stěžejní předpoklad pro stabilitu populace všech obnovujících se buněk včetně sliznice dutiny ústní.

#### 4.4.2.1 Buněčná proliferace

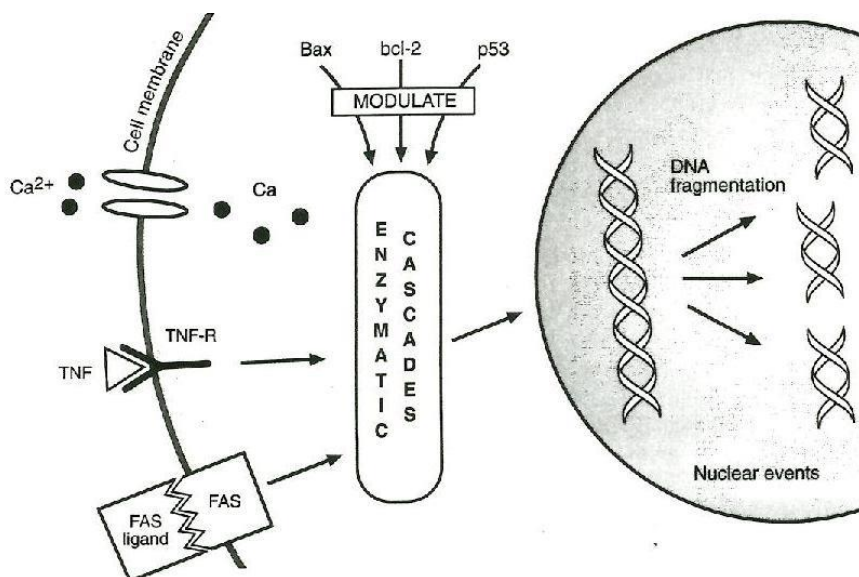
Z klidového, ale metabolicky aktivního stádia, fáze G<sub>0</sub>, buňky vstupují do buněčného cyklu na základě specifických stimulů. V podstatě všechny přechody mezi jednotlivými fázemi buněčného cyklu podléhají kontrolním bodům (tzv. checkpoints). První fáze buněčného cyklu po mitotickém dělení se nazývá fáze G<sub>1</sub> a zahrnuje metabolickou inaktivaci řady proteinů, např. Rb a p53, jejichž funkcí je potlačování proliferace. Během fáze G<sub>1</sub> je syntetizována celá řada proteinů, mimo jiné i cykliny C, E a D, které aktivují cyklin dependentní kinázy (např. CDK2, 4 a 5). Následná kinázová aktivita je nutná k ukončení DNA syntézy – fáze S buněčného cyklu. V tomto období se syntetizují další proteiny nutné pro DNA replikaci. Jakmile je replikován celý genom, syntetizují se cykliny A a B a buňka může přejít z fáze G<sub>2</sub> k mitotickému dělení. Mitotický proces tedy vyžaduje hladký průběh v kontrolních bodech G<sub>1</sub>/S a S/G<sub>2</sub>. Mnoho genetických abnormalit ovlivňuje právě kontrolní body a usnadňuje tím proliferaci buněk. Jedná se zejména o změny onkogenů, např. *ras* genu, a tumor supresorových genů *p53* a *Rb* [33, 177].

Proces kancerogeneze je většinou spojen se zvýšenou proliferací buněk. Odhadnutí stupně růstu může být užitečným nástrojem při předpovědi prognózy nádoru. K tomu slouží markery buněčné proliferace, například mitotický index, metoda značeného thymidinu a bromodeoxyuridinu nebo imunohistochemické metody využívající protilátky, které rozpoznají antigeny Ki67 a PCNA. Všechny tyto metody se pokouší identifikovat a měřit množství proliferujících buněk nacházejících se ve fázích S, G<sub>2</sub> a M buněčného cyklu. Meta-analýzou 14 studií bylo prokázáno, že 5,7-22,4 % buněk novotvaru se ve stejný okamžik nachází ve stádiu proliferace [366]. Další možností, která může předpovídat růst nádoru, je měření množství deoxyribonukleové kyseliny v jádře nebo měření jaderné ploidy metodou průtokové cytometrie. Přibližně 50 % orálních karcinomů obsahuje buňky s aneuploidním počtem chromozomů. Výskyt aneuploidie může být spojen se špatnou prognózou [167]. Aneuploidie se častěji objevuje u méně diferencovaných nádorů a u nádorů v pokročilejších stádiích, které metastazují [18, 149]. Samotné klony buněk, které metastazují, však bývají diploidní [329]. Studie zabývající se průtokovou cytometrií se snaží odhadnout tzv. potenciální zdvojeovací čas ( $t_{pot}$ ), tj. dobu, za kterou se počet buněk zdvojnásobí za předpokladu, že nedochází k signifikantním ztrátám. Pro karcinomy hlavy a krku se uvádějí průměrné hodnoty  $t_{pot}$  4-6 dní. Platí pravidlo, že rychleji rostoucí karcinomy s DNA aneuploidii reagují na agresivní multimodální terapii lépe než pomalu rostoucí nádory s euploidním počtem chromozomů [329].

#### 4.4.2.2 Programovaná buněčná smrt – apoptóza

Společně s regulátory buněčné proliferace existují i faktory, které ovlivňují programovanou smrt buněk. Součinnost těchto dvou drah zajišťuje, že množství buněk vznikajících jako důsledek proliferace odpovídá buněčné ztrátě. Při apoptóze, na rozdíl od nekrózy, se buňka sama aktivně podílí na svém zániku. Apoptóza se odehrává tehdy, je-li zánik buňky prospěšný a je řízena vývojovými stimuly a vlivy zevního prostředí. Proces apoptózy zahrnuje sérii kroků, které vyúsťují v buněčnou smrt bez poškození okolních buněk. Morfologické změny buňky podléhající apoptóze zahrnují smrštění, tzv. blebbing membrány (váčkovité výrůstky membrány), kondenzaci jaderného

chromatinu (tzv. pyknózu) a fragmentaci jádra do apoptických tělísek vázaných na membránu, která jsou následně odstraněna makrofágy okolních buněk. V apoptóze hraje roli celá řada genových produktů, některé ji stimulují, jiné inhibují. Aktivace apoptózy může být způsobena interakcí s jinou buňkou nesoucí tzv. Fas ligand nebo vazbou tumor nekrotizujícího faktoru TNF na receptory na povrchu buněčné membrány (obr. 3). Tyto interakce spouští kaskádu celé řady dějů, které vedou k aktivaci interleukin-1 $\beta$  konvertujícího enzymu a ceramidu, jejichž činnost je pro buňku fatální. Pro nádorové buňky je typická snížená exprese Fas receptorů a tím nedostatečná apoptóza [50].



**Obrázek 3. Schéma důležitých procesů uplatňujících se při apoptóze – vysvětlení v textu.**  
(Převzato: Booth a kol., 1999)

Další ústřední roli v apoptóze hraje gen *p53*. Při poškození DNA dochází ke zvýšené syntéze proteinu *p53* a *Myc* a pokud zároveň chybí růstové faktory, je indukována apoptóza. Tímto mechanismem jsou likvidovány buňky s genetickým poškozením. Protein *p53* současně indukuje expresi dalších proapoptických genů *bcl-2* a *bax* (obr. 3). Jiné regulační geny ovlivňující pohotovost buněk k apoptóze, dojde-li k poškození DNA, jsou *c-myc*, *ras* a *Rb* [327]. Jaderné změny při apoptóze jsou způsobeny aktivací Ca-Mg endonukleázy a produkcí kyslíkových radikálů, které štěpí chromozomy na více fragmentů. Přítomnost správně fungující dráhy apoptózy má klinický význam. Zvýšení vnímavosti buněk k apoptóze změnou poměru mezi stimulanty a inhibitory apoptózy představuje slibnou budoucnost v boji proti malignímu onemocnění.

#### 4.4.2.3 Genetické změny – onkogeny, tumor supresorové geny a DNA opravné geny

Onkogeny, nebo též protoonkogeny, jsou odvozené od genetického materiálu každé normální buňky, hrají roli v jejím růstu a diferenciaci. Pokud jsou ale nějakým způsobem změněny, mohou dát vznik maligním nádorům. Změna nebo aktivace onkogenu může být důsledkem mutace vznikající díky expozici buňky kancerogenům. Mutované geny jsou v buňce dominantní, a to i tehdy, je-li stále

přítomný původní gen, takzvaný divoký typ. Funkce produktů onkogenů není na biochemické úrovni dosud exaktně definována, mnoho z nich hraje úlohu v přenosu signálu z buněčné membrány k transkripčním faktorům jádra, které působí jako spínače jiných genů regulující růst [272].

Některé onkogeny kódují růstové faktory, tj. molekuly, které zahajují buněčné dělení. Prvním popsáním byl onkoprotein v-Sis odvozený od destičkového faktoru PDGF. Způsobuje vznik sarkomu. Jiné onkogeny kódují receptory pro růstové faktory. Expresí onkogenu *erbB* vzniká intracelulární doména receptoru pro epidermální růstový faktor EGFR. Jedná se o tyrosin kinázu, jejíž množství se při maligním bujení zvyšuje, čímž jsou zesíleny signály stimulující buněčnou proliferaci nádorových buněk. Monoklonální protilátky proti receptoru EGFR (např. cetuximab, panitumumab) jsou dnes jednou z variant biologické protinádorové terapie [33].

Další skupina onkogenů produkuje proteiny, které se podílejí na přenosu signálu v cytoplazmě buňky a jsou proto označovány jako sekundární poslové. Zástupcem této skupiny je gen *ras*. Rodina *ras* obsahuje tři hlavní onkogeny *K-ras*, *H-ras* a *N-ras* [50, 272]. Bodové mutace *ras* genů znemožňují regulaci aktivity Ras proteinu, který indukuje produkci cyklinu D a ovlivňuje tím přechod z G0 do G1 fáze buněčného cyklu. Mutace *ras* jsou častým nálezem u karcinomů hlavy a krku u nemocných v jihovýchodní Asii, naopak v západním světě jsou vzácnější. Soudí se, že mohou souviset se žvýkáním betelu [285, 282, 385].

Poslední skupina onkogenů participuje na transkripci genů a procesech v buněčném jádře. Některé produkují transkripční faktory, tj. molekuly, které fungují jako spínače kontrolující expresi genů. Onkoproteiny Fos a Jun vytvářejí heterodimer – součást transkripčního faktoru AP1. Ten se váže na specifické sekvence DNA a dává podnět k transkripci cílových genů. Do této skupiny patří i rodina genů *myc* (*c-myc*, *N-myc*, *L-myc*, *P-myc* a *B-myc*). Myc protein se spojuje s proteinem Max (Myc-associated factor X) a vzniklý komplex je také schopný vázat se na DNA a spouštět transkripci. Podobně jako produkty genu *ras*, i Myc prostřednictvím cyklinu D1 aktivuje přechod G0/G1 [85]. Amplifikace genu *myc* s následnou zvýšenou produkcí Myc proteinu je u maligních nádorů hlavy a krku dávana do souvislosti se vznikem uzlinových metastáz [92]. Mnoho nádorových buněk produkujících Myc protein velice rychle proliferuje. Je však možné, že zvýšená exprese *myc* genu je důsledkem, nikoliv příčinou zvýšené proliferace. Novější výzkumy se zaměřují zejména na gen pro cyklin D, který je zvýšeně exprimován u 30-50 % karcinomů hlavy a krku [22].

Tumor supresorové geny se nazývají též antionkogeny nebo recesivní onkogeny. Jejich funkcí je potlačovat nádorový růst. K eliminaci této funkce musí být inaktivovány obě alely genu. Typickým obrazem je delece jedné alely a mutace druhé. Proliferace buněk se pak vymyká kontrole a vzniká více a více genetických abnormalit. Takové abnormality se při vzniku karcinomů hlavy a krku zdají být důležitější než změny ovlivňující onkogeny. Nejznámějšími tumor supresorovými geny jsou *p53*, *Rb* a *DCC*.

Protein *p53* je klíčovým spínačem či transkripčním faktorem regulujícím genovou aktivitu. Například spouští transkripci *p21* (produktu genu *Waf*), který stejně jako *p16* brzdí průběh buněčného cyklu. Dále také *p53* zvyšuje množství Bax a Fas proteinů, které hrají zásadní roli při apoptóze. V normálních buňkách je hladina *p53* velmi nízká. Dojde-li k poškození DNA, dramaticky vzrůstá. Následuje zvýšení *p21*, což je cyklin dependentní inhibitor kinázy. Ten způsobuje, že se buněčný cyklus zastaví v G1 fázi a je potlačen přechod do S fáze. Průběh buněčného cyklu se zastaví, takže může dojít k opravám DNA před rozdělením buňky. Pokud je poškození DNA závažné

a nelze jej zcela opravit, podléhá buňka apoptóze. V případě ztráty funkce p53 nemůže při poškození DNA dojít k zástavě buněčného cyklu ani k apoptóze. Buňky nadále proliferují a genetické abnormality se kumulují. Bodové mutace a ztráta alely p53 jsou vůbec nejběžnější změny přispívající ke vzniku rakoviny hlavy a krku [4, 41, 191]. Většina mutací p53 se odehrává na exonech 5-8, kde dochází k transverzi G-T. Stejný charakter vzniku má i karcinom plic, což svádí k závěrům, že oba tyto nádory mají stejný etiologický činitel v podobě benzpyrenu, tj. hlavního mutagenu tabákového kouře. Nicméně ne všechny nádorové buňky mají zmutovaný gen p53. Normální protein p53 má velmi krátký poločas a nelze jej imunohistologicky detekovat, zatímco produkt mutované formy genu je detekovatelný snadno. Zajímavé jsou výsledky jedné studie, kdy 52 % histopatologicky negativních okrajů nádorů s mutací genu p53 obsahovalo též p53 mutaci a u 38 % pacientů s takto geneticky změněnými okraji se později objevila recidiva. Stejně změny se týkaly i histologicky negativních lymfatických uzlin [45].

Funkce Rb genu (retinoblastomový gen) je obdobná funkci p53. V součinnosti s proteinem p53, cykliny a cyklin dependentními kinázami indukuje Rb expresi jiných genů v určitých fázích cyklu. Aktivita Rb proteinu je závislá na úrovni vlastní fosforylace a tímto je řízena transkripce genů. Nefosforylovaný nebo málo fosforylovaný protein se váže na transkripční faktory E2F a vzniká komplex, který je neaktivní. Nastane-li fosforylace, Rb se s vazby uvolňuje a dochází ke stimulaci buněčného růstu. Delece Rb lokusů jsou u karcinomů hlavy a krku častým nálezem [194, 213]. Podle některých studií je při změně pouze jedné alely genu Rb produkce proteinu zachována [386].

DCC gen (deleted in colon cancer) se nalézá v oblasti 18q21, jeho produkt se vyskytuje ve většině tkání. Ztrátou DCC se pravděpodobně zastavuje přenos signálu k diferenciaci, což buňku stimuluje k nekontrolovatelnému dělení. Delece genu je typická pro kolorektální karcinomy, karcinomy prsu, glioblastomy a gastrointestinální, pankreatické a prostatické nádory. Ztráta alely byla však popsána i u orálních dlaždicobuněčných karcinomů [281].

U karcinomů hlavy a krku jsou předpokládány některé další kandidátní lokusy chromozomů. Tyto lokusy mohou být odhaleny cytogenetickou analýzou nebo ztrátou heterozygoty (loss of heterozygoty – LOH). Zatímco u normálních buněk lze pomocí polymorfních markerů detekovat přítomnost dvou alel genu, u nádorových buněk jedna alela chybí. U karcinomů hlavy a krku byly prokázány častější ztráty heterozygoty na lokusech 3p, 5q, 8p, 9p, 9q, 11q, 13q, 17p, 18q a 21q a tudíž se předpokládá, že by zde mohly být kódovány tumor supresorové geny [5, 91, 248]. Pozornost se soustřeďuje zvláště na oblasti chromozomů 3p, 8p, 9p a 21q [53, 156, 171, 256, 353, 355, 380]. Ztráta alely na krátkém raménku chromozomu 3 (3p) je detekována až u 70 % všech zhoubných nádorů [91, 156, 256, 380]. Doposud však není dořešeno, zda ztráta heterozygoty je přímou příčinou maligního bujení nebo naopak důsledek genomického chaosu, který při maligním onemocnění vzniká. Jeden supresorový gen byl kupříkladu identifikován na konci krátkého raménka 3. chromozomu. Jeho mutace způsobuje vznik von Hippel-Lindauovy choroby, pro kterou jsou charakteristické karcinomy ledvin, nádory nadledvin a pankreatu a hemangioblastomy mozku, míchy či sítnice. Uprostřed krátkého raménka v oblasti 3p21 jsou další supresorové geny, jejichž nedostatečná exprese způsobuje nádory plic a ledvin. V blízkosti centromery lokusu 3p14.2 je další fragilní místo, kandidátní tumor supresorový gen FHIT [360]. Ztráta alely FHIT se vyskytuje u různých typů nádorů a také u asi 50 % karcinomů hlavy a krku [258]. Delece v oblastech krátkého raménka 9. chromozomu se též ve zvýšené míře vyskytují u mnohých karcinomů, zejména karcinomů plic [173, 373]. V případě rakoviny hlavy a krku jde nejčastěji o gen p16, který prostřednictvím inhibice cyklin dependentní kinázy ovlivňuje buněčnou proliferaci [53]. Naopak

například tumor supresorové geny *BRCA1* a *BRCA2*, které hrají roli při vzniku karcinomu prsu, se pravděpodobně při tumorigenezi v oblasti hlavy a krku neuplatňují [33].

Absence DNA opravných genů je již po několik dekad známou příčinou vzniku maligních tumorů. Tímto mechanismem vzniká například hereditární nepolypózní karcinom, kde byly popsány defekty několika genů. Těmito geny jsou *hMLH1*, *hMSH1*, *hPMS1*, *hPMS2* a *GTBP* [93, 192]. Získané mutace genů mohou urychlit vznik rakoviny. Inaktivace obou alel opravných genů vede u hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu k fenoménu zvanému mikrosatelitní nestabilita, kdy nesprávnou replikací DNA vzniká nová alela, která obsahuje kratší nebo delší sekvence, přičemž nefunguje systém oprav [207]. Nové alely lze identifikovat až u 65 % karcinomů hlavy a krku, ale nezdá se, že by tyto změny byly způsobeny mutací *hMLH1* a *hMSH1*.

Stále probíhající proliferace a schopnost nekonečné sebeobnovy (imortalita) je fundamentálním charakteristickým rysem nádorových buněk. Enzym telomeráza je považován za buněčné hodiny, které řídí životnost buněk. V normálních buňkách se telomery nachází na konci chromozomů, jsou to opakující se sekvence DNA, které se s každým dělením buňky zkracují. Po narození obsahují chromozomy na koncích asi 15 000 opakování, jež zabraňují jejich degradaci či fúzi. Do 200 opakování je ztraceno při každém dělení. Když jsou telomery tímto způsobem zkráceny asi 100krát za sebou, dochází k vyčerpání replikační kapacity a je indukována apoptóza. Některé buňky, například kmenové buňky, si uchovávají délku svých telomer díky telomeráze, enzymu s polymerázovou aktivitou. Většina nádorových buněk mají vysoký obsah telomeráz, který umožňuje nekonečné dělení. Množství telomeráz tak může vypovídat o prognóze tumoru [218]. Délku telomer negativně regulují telomerové proteiny, například TRF1 a TRF2. Jsou součástí shelterinového komplexu, který inhibuje telomerázu a přispívá tak ke zkracování telomer.

#### 4.4.2.4 Časně a pozdní události, invaze a metastazování, imunitní odpověď

Ve studii, která zkoumala 30 premaligních lézí, bylo zjištěno, že u 71 % změn je přítomná ztráta heterozygoty, především na krátkém raménku 3. chromozomu a v genech *Rb*, *p53* a *DCC*. Během 7 let se u 10 pacientů vyvinul dlaždicobuněčný karcinom v dutině ústní, laryngu nebo v plicích. Pravděpodobnost vzniku karcinomu byla signifikantně vyšší u lézí s prokázanou genetickou abnormalitou; 73 % vzniklých karcinomů se vyvinulo na základě dysplastických lézí s genetickými odchylkami [257]. Malé procento pacientů s vícečetnými dysplastickými lézemi je současně postiženo primárním tumorem. To je vysvětlováno dvěma hypotézami. Jedna je založená na představě, že volnou migrací dysplasticky změněných buněk aerodigestivním traktem vznikají mnohočetná ložiska, přičemž vznik maligní buňky je vzácnou událostí. Alternativní pohled je, že dlouhodobá expozice sliznice kancerogenům vede k nezávislým transformacím na různých místech. Při srovnávání dysplastických změn a nádorů v rámci jednoho pacienta byly u tumorů zjištěny změny na molekulární úrovni, které v dyspláziích nebyly přítomny a které pravděpodobně zodpovídají za maligní charakter léze [33].

Někteří autoři se domnívají, že prognóza karcinomů je lepší, když v okolí nádoru vzniká zánětlivý infiltrát. Ten je údajně známkou probíhající buněčné i humorální imunitní odpovědi organismu [198, 383]. Nicméně imunitní systém i tak selhává a není schopen rozpoznat a zničit všechny nádorové buňky. Buňky imunitního systému setrvávají ve stavu anergie, dokud nejsou přítomny sekundární signály. Teprve poté dojde ke spuštění imunitní reakce proti nádorovým antigenům. Jedním ze sekundárních signálů je molekula B7. Ačkoliv nádorové buňky prezentují antigeny, k imunitní



odpovědi může dojít až po expresi molekuly B7 [205]. Imunitní systém může selhávat i díky tumor supresorovým faktorům, jež produkují nádorové buňky. Takto třeba různé prostaglandiny nebo TGF $\beta$  brzdí buňkami zprostředkovanou imunitní odpověď [33].

Dosáhne-li tumor určité velikost, je základní podmínkou jeho dalšího růstu angiogeneze [272]. Nádorové buňky společně se stromálními buňkami secernují angiogenetické faktory, které stimulují novotvorbu kapilár. Angiogenní vlastnosti mají různé druhy fibroblastových růstových faktorů, transformující růstový faktor  $\alpha$ , destičkový růstový faktor, vaskulární endotelový růstový faktor, angiotenzin. Některé studie tvrdí, že stupeň angiogeneze je v korelaci s metastazováním do lymfatických uzlin. Takoví pacienti by mohli profitovat z elektivní blokované krční disekce a antiangienní terapie [260]. Samotný mechanismus metastazování není dosud objasněn. Schopnost metastazovat je pravděpodobně výsadou pouze některých nádorových buněk. Je ale možné, že zakládat metastázy mohou všechny buňky nádoru a jestli metastáza vznikne, záleží na lokálních podmínkách. Gen *nm23* je jedním z prvních objevených antimetastatických genů. Jeho snížená exprese byla prokázána u dlaždicobuněčného karcinomu hrtanu, kde souvisela s nižším přežitím nemocných [193]. Metastatická kaskáda zahrnuje uvolnění buňky od okolních buněk nádoru, průnik bazální membránou epitelu, průnik bazální membránou endotelu cév, migrace krevním či lymfatickým řečištěm, překonání endotelu a bazální membrány v jiné lokalitě a uchycení v nové tkáni s následnou proliferací. Během všech těchto procesů nesmí být nádorová buňka identifikovaná imunitním systémem. V normální tkáni jsou buňky spojeny, což umožňuje vzájemnou výměnu signálů. Spojení buněk se účastní takzvané adhezivní molekuly. Ty se rozdělují do několika skupin v závislosti na jejich biochemických a strukturálních vlastnostech. Nejvýznamnějšími skupinami jsou imunoglobulinová superrodina (obsahuje např. tumor supresorový protein DCC), integriny, kadheriny, selektiny a rodina CD44. Mnoho studií odhalilo u maligních nádorů sníženou expresi adhezivních molekul. Kupříkladu u málo diferencovaných a metastazujících karcinomů hlavy a krku byla identifikována redukováná exprese kadherinu E a také změny CD44 a integrinů [356]. Je však zapotřebí zdůraznit, že některé z těchto změn nejsou nádorově specifické a mohou být součástí normální diferenciace. Prostup nádorových buněk zajišťují proteázy produkované nejen nádorovými buňkami, ale i okolím. Aktivitu proteáz regulují přirozené inhibitory proteáz, např. TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases). Během cirkulace v krevním či lymfatickém řečišti je nádorová buňka vystavena řadě obranných mechanismů řízených hlavně NK lymfocyty a T-lymfocyty. Lokalita, ve které dojde ke konečnému usídlení, je závislá na typu antigenů exprimovaných na jejím povrchu [135].

## 4.5 Klasifikační systémy

Klasifikace nádorů hlavy a krku vychází z všeobecně uznávaného klasifikačního systému TNM, který vypracoval v letech 1943 až 1952 Pierre Denoix. Jeho hlavním cílem je, aby všichni lékaři zabývající se onkologií byli schopni používat „společný jazyk“ při porovnávání svých klinických údajů a při hodnocení léčebných výsledků. Na aktualizacích TNM systému se podílí národní a mezinárodní komise. V současné době je v platnosti 7. vydání z roku 2009 [317], s kterým se shodují pravidla pro staging uvedené v 7. vydání manuálu American Joint Committee on Cancer [81].

Dělení případů zhoubných nádorů do skupin podle tzv. stadií vyšlo ze skutečnosti, že hodnoty přežívání byly u případů lokalizovaného onemocnění vyšší než u těch, kde došlo k rozšíření onemocnění mimo původní orgán. Tyto skupiny byly často označovány jako případy časně a pozdní, čímž byla vyjádřena určitá progresa v čase. Stadium onemocnění v době stanovení diagnózy může však ve skutečnosti být odrazem nejen míry růstu a rozsahu nádoru, ale i typu nádoru a vztahu mezi nádorem a hostitelem. Rozdělení zhoubných nádorů do stadií (staging) se dnes stalo již tradicí, a pro účely analýzy skupin pacientů je jejich použití často nezbytné. Unie pro mezinárodní kontrolu rakoviny (UICC) považuje za důležité dosáhnout shodu v zápise přesné informace o rozsahu onemocnění pro každou lokalizaci, neboť přesný klinický popis zhoubných nádorů a histopatologická klasifikace může sloužit řadě společných cílů:

1. Pomáhá klinikovi při plánování léčby
2. Poskytuje určité údaje o prognóze
3. Napomáhá při hodnocení léčebných výsledků
4. Usnadňuje výměnu informací mezi jednotlivými léčebnými centry
5. Přispívá k průběžnému výzkumu zhoubných nádorů u člověka

Hlavním cílem mezinárodní dohody o klasifikaci zhoubných nádorů podle rozsahu onemocnění je poskytnout metodu, jak sdělovat klinické zkušenosti jednoznačným způsobem. Pro klasifikaci nádorů existuje řada podkladů či kritérií: např. anatomická lokalizace, klinický a patologicko-anatomický rozsah onemocnění, udávaná doba trvání symptomů či známek choroby, pohlaví a věk nemocného, histologický typ a stupeň diferenciacie. Všechny tyto parametry představují proměnné, které ovlivňují výsledný stav nemoci. Prvořadým kritériem TNM systému je klasifikace anatomického rozsahu nemoci, jež je určen klinicky a pokud možno i histopatologicky. Bezprostředním úkolem klinika je zhodnotit prognózu a rozhodnout o nejúčinnějším průběhu léčby. Obojí vyžaduje, kromě jiného, objektivní zhodnocení anatomického rozsahu nemoci. Vývoj směřuje od stagingu ke smysluplnému popisu nálezu s následnou možností určité formy sumarizace. Ke splnění stanovených cílů je zapotřebí klasifikační systém, který je ve svých hlavních zásadách použitelný pro všechny anatomické lokalizace bez ohledu na léčbu a který připouští pozdější doplnění o informace získané histopatologickým vyšetřením a/nebo chirurgickým výkonem. TNM systém těmto požadavkům vyhovuje.

Od roku 1958 se světová zdravotnická organizace zabývala programem na vypracování mezinárodně přijatelných kritérií pro histologickou diagnostiku nádorů. Výsledkem je International Histological Classification of Tumours (Mezinárodní histologická klasifikace nádorů), která obsahuje definice typů nádorů a navrženou nomenklaturu. Program navazuje novou řadou – WHO Classification

of Tumours-Pathology and Genetics of Tumours. Poslední aktualizace dílu pro nádory hlavy a krku je z roku 2005 [21].

WHO International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O), česky Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii (MKN-O), představuje systém kódování nádorů podle topografie, morfolgie a biologického chování nádorů. V současnosti je platná její 3. revize [105]. V zájmu podpory národní i mezinárodní spolupráce v onkologickém výzkumu, a zejména pro usnadnění součinnosti ve výzkumu klinickém se doporučuje používat pro klasifikaci a definování jednotlivých typů nádorů WHO Classification of Tumours, a pro ukládání a vyhledávání dat používat kódy podle MKN-O.

Nádory hlavy a krku se v TNM systému rozdělují do těchto anatomických lokalizací:

- Ret, dutina ústní
- Hltan: orofarynx, nazofarynx, hypofarynx
- Hrtan
- Dutina nosní a dutiny paranazální
- Maligní melanom sliznice
- Velké slinné žlázy
- Štítná žláza

Karcinomy vycházející z malých slinných žláz horního oddílu dýchacího a trávicího traktu se klasifikují podle pravidel pro nádory příslušné anatomické lokalizace, např. dutiny ústní.

Každá lokalizace je popsána podle následujícího schématu:

- Pravidla klasifikace s uvedením postupů pro stanovení kategorií T, N a M; pro zpřesnění hodnocení před léčbou je možno použít doplňující vyšetřovací metody
- Anatomické lokalizace, v případě potřeby sublokalizace
- Definice regionálních mízních uzlin
- TNM klinická klasifikace
- pTNM patologická klasifikace
- G - histopatologický stupeň diferenciací (grading)
- Rozdělení do stadií
- Souhrn

Pravidla klasifikací pro jednotlivé anatomické lokalizace, jakožto i všeobecná pravidla TNM systému, přesahují rámec této dizertační práce.

## 4.6 Diagnostika

Diagnostika orofaciálních tumorů začíná pečlivě odebranou anamnézou, na kterou navazuje fyzikální vyšetření – aspekce a palpce. Tato kapitola bude zaměřená na zobrazovací metody. Problematika molekulární diagnostiky a nádorových markerů je zmíněna v kapitolách 4.3 a 4.4.

### 4.6.1 Rentgenové vyšetření

Dvojrozměrné zobrazení rentgenového snímku poskytuje málo informací o skutečném rozsahu procesu, může však zachytit masu nádorové tkáně nebo resorpci kosti. Pro tyto účely jsou však vhodnější CT vyšetření nebo magnetická rezonance, které většina klinických případů stejně vyžaduje. Jediným rutinně používaným rentgenogramem je ortopantomogram (OPG), jež slouží k diagnostice dentálního onemocnění u pacientů před chirurgickou léčbou a radioterapií [296]. K diagnostice vzdálených metastáz se před celotělovým skenem někdy upřednostňuje RTG hrudníku.

### 4.6.2 Radionuklidy

Princip radioizotopového zobrazení spočívá ve využití biologicky tolerované látky značené radionuklidy s krátkým poločasem rozpadu. Většinou je tato substance aplikovaná intravenózně. Poté je gama kamerou registrována aktivita v místech, kde se selektivně koncentruje. Jako radiofarmakum se nejčastěji používají fosfátové komplexy značené izotopem technecia  $^{99m}\text{Tc}$ . Scintigrafie je nespecifickým vyšetřením, odhalí všechna ložiska se zvýšenou metabolickou aktivitou. V kostní tkáni může jít například o nádorovou invazi, osteomyelitidu nebo proces hojení po traumatu. Celotělový sken není u primárních tumorů hlavy a krku zpravidla opodstatněn, dokud nejsou přítomny klinické či biochemické známky generalizace. Samostatný sken oblastí hlavy má sice větší senzitivitu než rentgenové vyšetření, ale při dostupnosti CT a MRI je jeho indikace sporná [6]. Někdy se metoda používá k průkazu přijetí kostních štěpů. Radionuklidy emitující gama-záření jsou dnes postupně vytlačovány radionuklidy emitujícími pozitrony (technika PET).

### 4.6.3 Pozitronová emisní tomografie

Pozitronová emisní tomografie (PET) je diagnostickým nástrojem, který poskytuje unikátní informace o biochemických procesech v těle. Pozitrony emitující radionuklidy, jako například kyslík-15, dusík-13, fluor-18, jsou vázány na různé látky hrající roli v metabolických drahách. Zdaleka nejpoužívanější látkou při vyšetření pozitronovou emisní tomografií je  $^{18}\text{F}$ -Fluoro-2-deoxy-D-glukóza (FDG). Diagnostika nádorových procesů vychází ze skutečnosti, že maligní tkáň má podstatně vyšší obrat glukózy [341]. Nestabilní radioizotop  $^{18}\text{F}$  s poločasem rozpadu 109,7 minut se vyrábí v cyklotronu, poté je v laboratoři navázán na glukózu, s kterou vytváří sloučeninu FDG. FDG se aplikuje intravenózně do krevního oběhu vyšetřovaného, odkud se vychytává do tkání jako intermediární metabolit FDG-6-fosfát. Nestabilní jádro fluoru se stává stabilnějším tím, že emituje pozitivně nabitě částice – pozitrony, které prakticky ihned anihilují s negativně nabitými částicemi, elektrony, za vzniku dvou fotonů záření  $\gamma$ . Vzniklé fotony odlétají

v právě opačném směru se stejnou energií 511 keV [247]. Simultánní záznam obou fotonů dvěma protilehlými detektory dává, za asistence sofistikovaného počítače, trojrozměrný obraz. Jedná se o 3D mapu vychytávání glukózy v zobrazených tkáních.

Většina primárních nádorů hlavy a krku je klinicky detekovatelná, uvádí se však, že až u 5 % pacientů s krčními metastázami není zřejmé primární ložisko [220]. CT vyšetřením nebo magnetickou rezonancí lze u těchto pacientů odhalit primární origo jen v 15-20 % případů [242]. Naproti tomu pozitronová emisní tomografie je schopná identifikovat dlaždicobuněčné karcinomy hlavy a krku nezávisle na velikosti a lokalizaci a má tak nezastupitelnou roli v diagnostice okulárních nádorů horního aerodigestivního traktu [214]. Větší senzitivitu než CT a MRI má PET rovněž u recidivujících primárních nádorů [378]. Co se týče metastáz v krčních lymfatických uzlinách, je citlivost PET srovnatelná s CT i MRI, udává se u ní ale méně falešně pozitivních výsledků [43]. PET se též využívá k monitorování léčebné odpovědi. Nicméně první měsíce po radioterapii může být nález falešně negativní, naopak pozitivní skeny jsou většinou zárukou reziduálního procesu [121]. Zajímavostí je, že první měsíce po chemoterapii se falešně negativní výsledky nevyskytují [125].

Limitem samotné pozitronové emisní tomografie je nedostatečné zobrazení anatomických detailů. Tím je omezeno její využití při plánování chirurgického výkonu nebo radioterapie. Uvedené nevýhody lze eliminovat kombinací PET s jinými modalitami. V současnosti běžně používané hybridní zobrazovací metody jsou PET/CT a PET/MRI.

#### **4.6.4 Kontrastní vyšetření**

K diagnostice tumorů lokalizovaných ve slinných žlázách a okolí se využívala sialografie, kdy je kontrastní látka injektována přímo do vývodu slinné žlázy. V dnešní době je tato metoda vytlačována sofistikovanějšími zobrazovacími technikami. Stejně tak se dnes ke stagingu malignit hlavy a krku nevyužívá ani angiografie, při které se krevní řečiště naplní rentgen-kontrastní látkou. Specifický přínos má angiografie při zobrazení cévních nádorů, obvykle před embolizací hlavních arterií nebo při plánování chirurgické léčby extrémně vaskularizovaných tumorů a rekonstrukčních operací mikrochirurgickými metodami [228].

#### **4.6.5 Ultrasonografie**

Ultrazvukový obraz vzniká registrací amplitud zvukových vln o vysoké frekvenci odražených od tkání. Obvyklým výstupem ultrazvukového vyšetření je série fotografií. Nejdůležitější informace však ultrasonografie přináší na monitoru v reálném čase během vyšetření. Měkké tkáně odrážejí a absorbují (zeslabují) ultrazvukové vlny s rozdílnou intenzitou, vzniká tak typický ultrazvukový obraz různých odstínů šedi. Nižší frekvence pronikají hlouběji do tkání, než jsou kompletně absorbovány. Takové frekvence v rozsahu 2,5-5 MHz se používají k ultrasonografickému vyšetření břišních orgánů. Čím vyšší je frekvence, tím nižší je penetrace, ale rozlišení je tím vyšší. K vyšetření měkkotkáňových struktur hlavy a krku se využívá frekvence 5-10 MHz. Stupeň zeslabení ultrazvukových vln závisí na akustické impedanci média, kterým vlny prochází. Akustická impedance většiny měkkých tkání, ať už zdravých nebo postižených, je víceméně obdobná. Zcela odlišné vlastnosti mají vzduch a kostní tkáň, od rozhraní s oběma těmito prostředími se odrazí v podstatě všechny ultrazvukové vlny. Proto nemohou být zobrazeny například léze lokalizované

uvnitř mandibuly. Stejně tak nemohou být identifikovány léze nacházející se pod strukturami naplněnými vzduchem, například pod tracheou. K eliminaci vzduchu mezi ultrazvukovou sondou a kůží je nezbytné použití gelu. Naopak velice dobře lze díky intenzivnímu odrazu vln zobrazit drobná kalcifikovaná ložiska. Takto mohou být diagnostikovány sialolity ve slinných žlázách a jejich vývodech. I v onkologii má ultrasonografie specifické využití. Hodí se k diagnostice superficiálních nodulů ve slinných žlázách, štítné žláze nebo k zobrazení mízních uzlin. Hlubší struktury nemohou být ale věrohodně odečteny. Cystické léze se následkem nulového odrazu vln zobrazují černě. Benigní nádory jsou dobře ohraničené útvary s nízkou intenzitou echa. Maligní nádory nemají specifický obraz, špatné ohraničení je však zpravidla známkou větší agresivity léze. Ultrasonografie je velmi užitečný navigační nástroj při tenkojehlové biopsii. V některých centrech se pomocí ultrazvukem navigované aspirační biopsie tenkou jehlou rutinně vyšetřují uzliny o velikosti kolem 4 mm a podle toho se rozhoduje o potřebě blokované krční disekce [33]. Objevují se i názory, že v budoucnu bude možné echograficky určit charakter vyšetřované tkáně (tzv. akustická mikroskopie) [228].

#### **4.6.6 Počítačová tomografie (CT)**

Počítačová tomografie je založená na matematickém principu, podle kterého vnitřní struktury objektu mohou být rekonstruovány díky více projekcím tohoto zobrazovaného objektu. CT tedy spočívá v sérii rentgenových projekcí vyšetřované roviny těla získané soustřednou rotací zdroje záření a detektorů. Poté se tělo pacienta posune o předem určenou vzdálenost a proces se opakuje. Šíře rentgenového paprsku (tzv. kolimace) determinuje tloušťku řezu a může být redukována až na 1 milimetr. Je-li požadováno maximum informací, může být velikost posunu nastavena na stejnou hodnotu jako tloušťka řezu. K redukci dávky záření může být zvolen větší posun vyšetřovaného objektu. Úkolem výkonného počítače je pak na základě rozdílné absorpce záření zrekonstruovat plošný řez zobrazovaným objektem. V podstatě se jedná o vyřešení velké soustavy rovnic, kdy každému objemovému elementu (voxelu) je přiřazena skutečná hodnota oslabení rentgenového záření [247]. Od roku 1972, kdy byla tato zobrazovací technika poprvé představena, došlo k mnoha vylepšením spočívajícím zejména ve zvýšení senzitivity díky zvýšenému počtu detektorů a snížení dávky rentgenového záření. Moderní přístroje, kromě výše popsaného principu akvizice dat, umožňují i techniku spirálního (helikálního) skenování, kdy se zdroj a detektor záření kontinuálně pohybují po spirálovité dráze, zároveň pacient pomalu projíždí otvorem v gantry [47]. Umožňuje to rychlé pořízení obrazu a potlačení pohybových artefaktů a snazší rekonstrukci dat. Největší výhoda CT oproti standardnímu rentgenovému vyšetření tkví v daleko větším rozlišení. Například různé typy měkkých tkání mají různé hodnoty kontrastu. Výborně lze diagnostikovat diskrétní kostní defekty. Na druhou stranu určitým problémem, kterému CT čelí při zobrazování struktur v oblasti hlavy, je přítomnost hyperdenzních materiálů, např. amalgamových výplní, korunek z kovu, rekonstrukčních dlah nebo osteosyntetického materiálu, které mohou devalvovat výsledný obraz.

#### **4.6.7 Magnetická rezonance (Magnetic resonance imaging – MRI)**

Ačkoliv je proces zobrazení magnetickou rezonancí technicky značně komplexní, princip je relativně prostý. Všechny protony v jádře nesou pozitivní náboj a neustále rotují kolem své osy – mají určitý

spin. Každá takto rotující nabitá částice vykazuje magnetický moment a vytváří magnetické pole. Jestliže má jádro sudý počet protonů (sudé nukleonové číslo), polovina protonů bude rotovat jedním směrem a polovina druhým. Za této situace atomové jádro nepůsobí na své okolí magneticky, protože se magnetické momenty ruší. K zobrazení magnetickou rezonancí jsou tedy použitelná pouze jádra s lichým nukleonovým číslem, která si svůj moment zachovávají. V živé tkáni je daleko nejpočetnějším a nejdůležitějším prvkem vodík s jediným protonem. Přestože lze pomocí MRI experimentálně zobrazit jádra jakéhokoliv prvku s lichým počtem protonů (zejména se používá fosfor), pro klinické potřeby je nejvyužívanějším prvkem právě vodík. Za normálních okolností jsou rotační osy protonů v jádře rozmístěny zcela náhodně. Kromě rotace vykonávají jádra ještě další pohyb, který hraje důležitou úlohu při vyšetření magnetickou rezonancí. Jedná se o takzvanou precesi, což je pohyb spinu po plášti pomyslného kužele. Vložíme-li jádro do silného magnetického pole 0,15-1,5 Tesla, uspořádají se rotační osy protonů rovnoběžně se siločarami vnějšího magnetického pole ve dvou možných směrech – paralelním nebo antiparalelním. Antiparalelně orientované atomy mají vyšší energii než paralelní. Všechny atomy přitom neustále vykonávají precesní pohyb o stejné frekvenci (stejný počet otáček za určitý čas). Tato frekvence závisí na síle magnetického pole a na druhu atomu, nese název Larmorova frekvence. Právě tehdy pro magnetickou rezonanci naprosto klíčová událost. Přístroj vyšle do vyšetřovaného objektu elektromagnetické vlnění o frekvenci totožné s precesním pohybem atomů vodíku. Rozsah frekvence zhruba odpovídá vlnám, kterými se šíří rozhlas. Při interakci dvou vlnění o stejné frekvenci dochází k rezonanci – atomy vodíku absorbují energii, která jejich precesní pohyb vychýlí. Zjednodušeně lze říci, že tím přibude antiparalelně postavených atomů o vyšší energii na úkor paralelních. Navíc všechny atomy začnou vykonávat díky elektromagnetickému impulsu svůj precesní pohyb synchronně – začnou obíhat pomyslný kužel ze stejné strany, jejich spin je tedy v daný okamžik vychýlený na stejnou stranu a vznikne tak příčná magnetizace (kolmá na hlavní magnetické pole), kterou můžeme měřit. Když radiofrekvenční impuls přestane působit, atomy vodíku se začnou vracet do původního postavení a dochází k uvolnění absorbované energie – tzv. relaxace. V této fázi nastává měření. Měří se jednak čas, za jak dlouho se nadbytečné antiparalelní atomy vrátí do paralelní polohy, což se projeví jako změny v podélné magnetizaci (tzv. T1 čas), a dále se měří změny v příčné magnetizaci, tj. za jak dlouho se atomy opět desynchronizují v precesním pohybu (tzv. T2 čas). Časy závisí hlavně na složení okolní tkáně. V některých tkáních se atomy začnou opožďovat, jinde zrychlovat. Kontrastně tak můžeme odlišit tkáně obsahující velké množství tuků od tkání složených hlavně z vody. V současnosti je nejčastějším zdrojem magnetického pole supravodivá cívka. Pro její supravodivé vlastnosti je nutná velmi nízká teplota, cívka je proto v lázni z tekutého helia udržována při teplotě  $-269^{\circ}\text{C}$ . Dále přístroj obsahuje například volumové cívky, které ze všech stran obkružují tělo pacienta a slouží k vysílání i přijímání signálů či gradientní cívky, které vytvářejí přídatná magnetická pole. K zlepšení kvality výsledného obrazu se využívají kontrastní látky (tzv. postkontrastní magnetická rezonance). Nejběžnější z nich je gadolinium, které je z důvodu eliminace své toxicity vázané v chalátu [112]. Gadolinium je paramagnetická látka, při jejímž podání dojde ke zkrácení zejména T1 času. Dobře perfundované tkáně, jako například nazální sliznice, zánětlivá tkáň nebo tumor, mají vysoký obrat podaného gadolinia, takže v T1 váženém obraze vykazují podstatně světlejší odstín. Postkontrastní vyšetření je doporučeno hlavně u nádorů dutiny ústní, orofaryngu, slinných žláz a recidivujícího onemocnění [54, 136, 152, 333].

MRI vyšetření má několik nesporných výhod. Předně dokáže odlišit jednotlivé druhy měkkých tkání, jak již bylo zmíněno výše. Stejně jako CT dokáže zobrazit vyšetřovaný objekt v kterékoliv rovině. Některé artefakty ovlivňující CT sken mohou být při MRI méně dominantní. Další

neoddiskutovatelnou předností magnetické rezonance je, že nevyužívá ionizujícího záření. Na druhou stranu vzhledem k uzavřenosti přístroje nelze tuto zobrazovací techniku využít u pacientů trpících klaustrofobií. Zároveň je vyšetření magnetickou rezonancí velmi citlivé na volní i mimovolní pohyby pacienta. Kostní tkáň není při MRI detailně vykreslena, o to lépe je ale patrná eventuelní invaze tumoru do kosti. V případě přítomnosti cizích těles z feromagnetických kovů může být vyšetření magnetickou rezonancí kontraindikováno. K tomuto faktu by měl při různých rekonstrukčních výkonech onkochirurg přihlížet a zvolit nemagnetické materiály. K průkazu případné pozdější recidivy může být totiž magnetická rezonance nezastupitelná.



## 4.7 Terapie

Léčba malignit hlavy a krku se skládá ze 4 léčebných modalit – chirurgické ablace, radioterapie, chemoterapie a biologické léčby. Efektivita jednotlivých modalit nebo jejich kombinací závisí hlavně na stádiu onemocnění a histopatologii nádoru. Ablativní chirurgický výkon je u karcinomů hlavy a krku považován za primární modalitu, léčebný protokol často obsahuje adjuvantní radioterapii, chemoterapii nebo imunoterapii. Nechirurgické přístupy jsou metodou volby zejména u sarkomů a lymfomů.

### 4.7.1 Chirurgická terapie

Vlastnímu chirurgickému výkonu předchází jeho plánování, což je multidisciplinární proces. Sestává se z posouzení celkového zdravotního stavu pacienta, klinického vyšetření, aspekce a palpce intraorálních a extraorálních tkání včetně lymfatických uzlin, zobrazovacích vyšetření primárního tumoru a jeho šíření a histopatologické verifikace léze. Strategie chirurgického výkonu musí brát v úvahu jeho eventuální estetické a funkční důsledky. Vzhledem k anatomickým poměrům jsou rozsáhlé resekční výkony téměř vždy spojeny s následně omezenou funkcí měkkých tkání a tím limitací aktivit jako je řeč, polykání, mastikace. V dnešní době jsou proto ablativní chirurgické zákroky úzce spjaty s výkony rekonstrukčními. Extenzivní rozsah nádorového procesu ale může znamenat, že ani následným rekonstrukčním výkonem nebude možno obnovit funkci na přijatelnou míru. V těchto případech se od kurativní resekce upouští. Kontraindikací náročné operace v celkové anestezii může být i špatný zdravotní stav nemocného.

Jak již bylo konstatováno, histopatologické vyšetření determinuje volbu vhodné léčebné modality. U epiteliálních lézí lze jako neinvazivní screeningovou metodu využít exfoliativní cytologii. Její spolehlivost se pohybuje v širokém rozmezí od 27 % do 81 %. V oblastech s rohovějícím epitelem je spolehlivost velmi nízká. Dalším problémem je vysoké procento falešně negativních vzorků, udává se až 13 % [95]. Totéž platí pro tenkojehlovou biopsii a aspirační cytologii. U těchto metod se získá dostatečné množství buněk pouze v 70-95 % a falešná negativita testu se objevuje až ve 40 % [99, 202]. Aspirační cytologie se v histopatologické diagnostice doporučuje používat pouze tehdy, jedná-li se o podezřelé podkožní recidivující léze nebo k průkazu metastáz jinak verifikovaných tumorů. Lze ji také využít u lézí nacházejících se v místech špatně přístupných skalpeli, které budou stejně vyžadovat radikální resekci. Pro většinu nových a dosud nedagnostikovaných lézí je metodou volby otevřená biopsie. Při ní je zapotřebí zvážit, zda bude vhodnější diagnostická excize nebo incize, správně zvolit místo odběru a naplánovat uzávěr rány. Hranice řezu při odběru tkáně by měly vést na periferii a vzorek by měl obsahovat malou část zdravé tkáně. To jednak usnadňuje uzávěr defektu po biopsii a jednak usnadňuje histopatologické odečtení odebraného vzorku, který není ovlivněn sekundárním zánětlivým procesem, jež je součástí na povrchu exulcerovaných tumorů. Pro možnost snadnější topografické orientace by měl být odebraný biologický materiál označen stehy.

Maligní léze, na rozdíl od benigních, nemají přesně definované anatomické hranice, ale nepravidelně se šíří a infiltrují okolní tkáň. Ablace maligního nádoru nemůže být provedena tupou preparací nebo jako disekce kolem anatomických útvarů. Během chirurgického odstraňování se doporučují minimálně 15 milimetrové okraje klinicky zdravé tkáně kolem celého tumoru. Šířka bezpečnostní zóny se liší podle toho, kterou tkáň je nutné obětovat. Chirurgická léčba nádorů hlavy a krku často

vyžaduje výkon na regiolymfatickém aparátu. Zásady jsou zde zcela odlišné než u operací primárního tumoru. Bezpečnostní zóna kolem postižených uzlin není zřejmá a většinou nejsou podezřelé uzliny před operací histologicky verifikovány. Terapeutická rozvaha se tak opírá o klinické a radiologické důkazy. Chirurgické postupy na lymfatickém aparátu jsou neustále modifikovány, interkulturní rozdíly mezi německy a anglicky mluvícími zeměmi v anatomii hlubokého systému krčních lymfatických uzlin prohlubují terminologický chaos. Podle DÖSAK protokolu (německo-rakousko-švýcarská společnost pro rakovinu v maxilofaciální oblasti) do úrovně I spadají uzliny z povodí faciální žíly kolem těla dolní čelisti, oblast II zahrnuje uzliny mezi štítnou chrupavkou a dolním okrajem mandibuly, oblast III jsou uzliny mezi oběma kývači a pod nimi a oblast IV zadní krční trojúhelník. Dle anglicky psané literatury oblast I tvoří uzliny submentální a submandibulární, oblasti II-IV uzliny horní, střední a dolní části povodí vnitřní jugulární žíly a oblast V uzliny zadního krčního trojúhelníku [295]. Různé pohledy jsou i na chirurgický management. Americká otolaryngologická společnost vytvořila nomenklaturu pro různé druhy krčních disekcí. Podle ní se rozlišuje mezi selektivním odstraněním jednotlivých skupin uzlin s vysokou pravděpodobností nádorového rozsevu a mezi odstraněním všech uzlin, které může být buď radikální, nebo funkční. Při radikální disekci se kompletně odstraňuje kývač hlavy, jugulární žíla a XI. hlavový nerv. Funkční disekce tyto struktury šetří. Selektivní výkony mohou být provedeny jako disekce supraomohyoidní, posterolaterální, laterální a přední (tab. 2). Ze všech těchto různých typů selektivních disekcí mají u dlaždicobuněčných karcinomů horního aerodigestivního traktu zvláštní význam supraomohyoidní disekce a laterální disekce, které právě podle anglicky psané literatury zastihují všechny uzliny zahrnuté v procesu metastazování orální rakoviny [51]. Zatímco supraomohyoidní krční disekce odstraňuje všechny uzliny ze submentálního a submandibulárního prostoru, horní a střední jugulární uzliny a horní a střední zadní krční uzliny, laterální krční disekce ignoruje submandibulární uzliny a odstraňuje všechny uzliny zadního krčního trojúhelníku.

**Tabulka 2. Klasifikace krčních disekcí podle American Academy of Otolaryngology and Head and Neck Surgery.**  
(Převzato: Robbins a kol., 1991)

1. Radikální krční disekce
2. Modifikovaná radikální krční disekce
3. Selektivní krční disekce
  - a. Supraomohyoidní krční disekce
  - b. Posterolaterální krční disekce
  - c. Laterální krční disekce
  - d. Přední krční disekce
3. Rozšířená radikální krční disekce

Naproti tomu DÖSAK protokol rozlišuje 3 typy výkonů:

1. Suprahyoidní krční disekce – odstranění celého obsahu submandibulárního prostoru včetně submandibulární žlázy, mediálního periostu dolní čelisti a dolního pólu příušní slinné žlázy. V závislosti na lokalizaci primárního tumoru se resekuje přední nebo zadní bříško m. digastricus.
2. Konzervativní nebo funkční krční disekce – navíc se odstraňují uzliny a tuková tkáň z laterálního krčního trojúhelníku a z oblasti kolem kývače za současného šetření kývače, platysmatu, vnitřní jugulární žíly a XI. hlavového nervu.
3. Radikální krční disekce – odstranění všech tkání krku nad vnitřní fascií s výjimkou společné a vnitřní krkavice a kůže.

Stále přetrvává snaha stanovit kritéria pro provedení chirurgické revize krku daného rozsahu. Nejčastěji se jako indikační nástroj využívá TNM klasifikace. Anglicky píšící autoři povětšinou doporučují provádět krční disekce u všech tumorů T2N0 a větších [122, 321], respektive již u málo diferencovaných T1N0 karcinomů [339]. Jedná-li se o karcinom dutiny ústní, navrhuje paušální supraomohyoidní krční disekci [319]. Podle skupiny DÖSAK je u karcinomů T2N0 a větších doporučen homolaterální suprahyoidní blok s revizí karotického trojúhelníku. Při primárním postižení kořene jazyka je podle tohoto protokolu na místě oboustranná suprahyoidní disekce. Jestliže je klinicky nebo radiologicky prokázáno postižení uzlin, měla by být zároveň provedena peroperační biopsie ze zmražené tkáně. Při pozitivním nálezu se výkon rozšiřuje na konzervativní krční disekci. Dochází-li k extrakapsulárnímu šíření nádorového procesu z uzlin, které adherují k okolním tkáním, může dojít až na radikální krční disekci. Prospektivní randomizovanou studií autorů DÖSAK skupiny však bylo zjištěno, že u pacientů s klinickými stádii N1 a N2 nejsou mezi konzervativní a radikální krční disekcí rozdíly v době přežití ani četnosti recidiv. TNM systém není rozhodně všeobjímající. Důležitá jsou i jiná kritéria, jako například šířka tumoru, stromální invaze nebo mikrovaskulární invaze, která byla dokonce mnohými označena za spolehlivější [62, 301, 320]. Prokázána byla také korelace mezi postižením uzlin a přítomností specifických subpopulací lymfocytů v infiltrátu kolem nádoru [312]. Lokalizace primárního tumoru může být dalším rozhodujícím faktorem při indikování chirurgického výkonu na krku [51]. Například bohaté cévní zásobenění jazyka spolu s jeho extenzivní lymfatickou drenáží je spojeno s častějším metastazováním, než je tomu u kterékoliv jiné lokality dutiny ústní [101]. Navíc je pro jazyk charakteristické rychlé metastatické šíření, při kterém často dochází k postižení vzdálenějších uzlin za současného „přeskočení“ uzlin v bezprostředním okolí nádoru [379]. Proto se u karcinomů jazyka častěji uvažují krční disekce většího rozsahu, a to oboustranně, poněvadž jazyk je nepárový orgán s bilaterální drenáží.

Rozdíly mezi německou a anglofonní literaturou jsou i v přístupu k adjuvantní radioterapii. Zatímco němečtí autoři přistupují k pooperačnímu ozáření výlučně při histologicky prokázaném extrakapsulárním šíření, doporučení vydávaná v Angličtině jsou nejednoznačná. Spiro a kol. [319] navrhuje radiační terapii při jakémkoliv postižení uzlin, naopak Byers [52] považuje u stádií N1 bez extrakapsulárního šíření supraomohyoidní blok za dostatečný. Woolgar a kol. [379] tvrdí, že přežití pacientů je podobné, ať už před ozářením byly prokázány intrakapsulární metastázy či nikoliv. Více o radioterapii pojednává následující kapitola.

## 4.7.2 Radioterapie

### 4.7.2.1 Úvod

U karcinomů hlavy a krku mají kurativní potenciál pouze chirurgická léčba a radioterapie. Obě tyto modalitty je nutné chápat spíše jako komplementární než konkurenční. Společným znakem orofaciálních karcinomů je jejich metastazování nejprve lymfogenní cestou [195]. Tendence zakládat metastázy se liší v závislosti na lokalizaci primárního origa a stupni diferenciacie [203]. Proto se ve většině případů plánování léčby zaměřuje nejen na primární tumor, ale i na oblast krku. I v rámci histologicky jednotné entity, jakou jsou dlaždicobuněčné karcinomy hlavy, existuje velká variabilita v reakci na radiační léčbu [371]. Radiosenzitivita těchto nádorů je tak do jisté míry nepředvídatelná, naopak předpokládána radiorezistence není kontraindikací radioterapie. Výsledná odpověď ozařované nádorové tkáně je ovlivněna řadou faktorů, mezi jinými i její oxygenací. Je-li ozařován tumor, jsou zasaženy i benigní buňky v jeho okolí nebo ty, které stojí v dráze paprsků probíhajících od kůže k nádoru lokalizovanému v hlubších vrstvách. Problematice nežádoucích účinků radioterapie se věnujeme v samostatné kapitole.

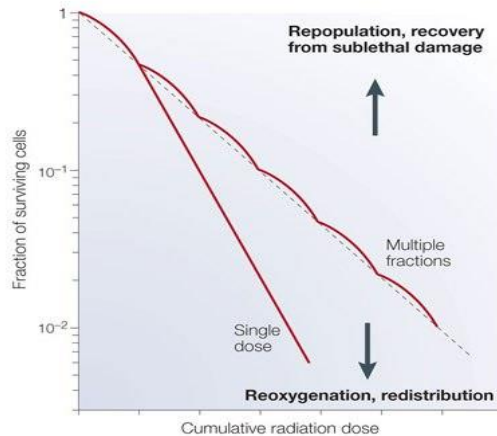
### 4.7.2.2 Klinická aplikace radioterapie

Radioterapie může být aplikována s kurativním nebo paliativním záměrem. Cílem radikální radioterapie je úplné vyléčení, tedy dlouhodobá lokální a regionální kontrola nádoru. Ta může být dosažena tehdy, jsou-li zlikvidovány všechny buňky nádoru, které mají neomezenou schopnost dělit se (tzv. kmenové buňky nádoru). Paliativní radioterapie si klade za cíl odstranit symptomy způsobené maligním procesem a tím zvýšit kvalitu života. Paliativní radioterapie je indikována, je-li nepravděpodobné úplné vyléčení vzhledem k velikosti primárního nádoru nebo přítomnosti metastáz. Využívá se k omezení krvácení z nádoru, úlevě od bolesti, eliminaci tlakových obtíží nebo k odstranění obstrukcí. Esenciálním krokem při plánování radioterapie je odhad prognózy, protože při paliativní léčbě je celková efektivní dávka nižší než při radikální aktinoterapii. Management rakoviny hlavy a krku často spočívá v kombinaci chirurgické léčby a radioterapie. Důvodem je velká tendence karcinomů k lymfangioinvasi nebo nedostatečně velká bezpečnostní zóna při resekci primárního tumoru. Postoperační radioterapie začíná po zhojení operační rány, které obvykle nastává 2-4 týdny po chirurgickém výkonu. Interval od operace do zahájení radioterapie podle mnohých kriticky ovlivňuje léčebné výsledky [165, 359]. Jiná reanalýza však nezjistila signifikantní rozdíl mezi pacienty ozářenými do 6 týdnů po chirurgickém výkonu a později, byla-li u nich celková radiační dávka dostatečná (12 % recidiv vs. 15 % recidiv) [303]. Přesto je soudobým trendem zahájit adjuvantní radioterapii co nejdříve po zhojení ran. V některých případech radioterapie předchází chirurgické fázi léčby. Cílem této neadjuvantní radioterapie je zmenšení hmoty nádorové hmoty a umožnění pozdější resekce původně inoperabilního tumoru. Chirurgický výkon je možno provést až po odeznění akutní mukozitidy po ozáření. V průměru toto období trvá 4-6 týdnů. Pacienti, kteří z celkově zdravotních důvodů potřebují interval mezi ozářeními a operací delší než 6 týdnů, jsou více ohroženi selháním terapie [303].

### 4.7.2.3 Principy radioterapie, frakcionace

Hlavním záměrem radioterapie je s maximální přesností dopravit do přesně definovaného cílového objemu dostatečnou dávku záření v určitém čase a s minimálním zatížením zdravých tkání; jinými slovy na správné místo správnou dávku. Jeden gram nádorové tkáně obsahuje přibližně  $10^9$  buněk. Se stoupající dávkou záření klesá počet přežívajících buněk [303]. Zpočátku má křivka odpovědi buňky na dávku pomalu rostoucí tendenci a je zakřivená do tvaru raménka, které charakterizuje kumulaci poškození jednotlivých struktur buňky, jež musí být zasaženo zářením, než dojde k buněčné smrti. Při hodnotě přibližně 2-3 Gy nastává zlom, křivka začne strmě stoupat a nabývá téměř lineárního charakteru. S výjimkou velmi malých dávek lze tedy křivky přežívání buněk popsat lineárně-kvadratickou funkcí  $\alpha d + \beta d^2$ , kde  $d$  je jednotlivá dávka v grayích a  $\alpha$  a  $\beta$  jsou specifické koeficienty pro tumor nebo zdravou tkáň. Tvar křivky v lineárně-kvadratickém modelu závisí na hodnotě koeficientu  $\alpha/\beta$ . Jednotkou poměru je Gy. Hodnota koeficientu  $\alpha/\beta$  je taková dávka, kdy se lineární komponenta podílí stejnou měrou na usmrcení buněk jako kvadratická komponenta. Vyšší hodnoty  $\alpha/\beta$  nad 8 Gy jsou typické pro rychle reagující tkáně, které reagují již během ozáření (většina tumorů, sliznice, kůže), naopak nižší hodnoty koeficientu  $\alpha/\beta$  1-4 Gy charakterizují tkáně, které reagují na ozáření pozdními změnami. Koeficient  $\alpha/\beta$  také popisuje citlivost tkání k velikosti jednotlivé frakce. Nízká hodnota  $\alpha/\beta$  koeficientu určuje vyšší citlivost ke změnám frakcionace. Šířka úvodního raménka je specifická pro různé nádorové entity; u maligního melanomu je raménko neobyčejně široké.

$D_0$  je dávka, při které přežije  $1/e$  buněk, což je přibližně 37 %. Pro většinu savčích buněk je hodnota  $D_0$  asi 1-2 Gy. Každá frakční dávka radioterapie tak usmrtí stejné procento přežívajících buněk. Standardně se s kurativním záměrem aplikuje 30-40 frakcí, větší tumory však obsahují desetkrát až stokrát více buněk, a proto vyžadují větší dávky ve více frakcích [33]. Během 5-7 týdnů radioterapie se ve zmenšujícím se a původně hypoxickém nádoru zvyšuje krevní průtok, nastává reoxygenace [376]. Polarografická vyšetření však prokázala, že u karcinomů hlavy a krku se při ozařování postupně zvyšuje poměr hypoxických buněk [33]. Během periody mezi jednotlivými frakcemi zároveň dochází k nekonstantní, ale postupně narůstající repopulaci přeživších nádorových buněk [338]. Další faktory ovlivňující výsledek radioterapie jsou redistribuce fází buněčného cyklu a schopnost buněk zotavit se ze subletálního a potenciálně letálního poškození (obr. 4.).



**Obrázek 4.** Graf schematicke znázorňuje křivky přežití při jednotlivé dávce a vícečetných dávkách záření. Iniciální raménko u jednotlivé dávky představuje kumulaci subletálních poškození. Během intervalů mezi jednotlivými dávkami dochází k zotavení ze subletálního poškození, reoxygenci hypoxických buněk, redistribuci v buněčném cyklu a buněčné repopulaci (viz text výše).

(Převzato: Kim a Tannock, 2005)

Jedna dávka cytotoxických léků u citlivých tumorů zhruba odpovídá jedné frakci záření. Tři až čtyři cykly chemoterapie vedou k redukci přežívajících buněk o 2-4 logaritmy, která se projeví klinicky jako částečná nebo úplná odpověď. U orofocaiálních karcinomů ale tento proces podněcuje kmenové buňky nádoru k dalšímu dělení. Z toho důvodu zde není samostatná chemoterapie kurativní modalitou [33].

Konvenční schéma frakcionace při radioterapii dlaždicobuněčných karcinomů zůstává po desetiletí neměnné. Denní dávka 2 Gy se aplikuje pětkrát v týdnu, tj. celkově 10 Gy týdně. Doba záření je 6 týdnů, během nichž se celkově aplikuje 60 Gy. Při tomto schématu je díky dlouhodobým zkušenostem dobře předpověditelná odpověď nádoru i slizniční reakce. Problém nastává u velkých tumorů T3 a T4, u kterých se při konvenční frakcionaci nedosahuje uspokojivých výsledků, proto je potřeba zvýšit účinnost hyperfrakcionací nebo akcelerovanou frakcionací [331].

Hyperfrakcionací se rozumí podávání více než jedné dávky denně, přičemž celková denní a týdenní dávka je obdobná jako u konvenční frakcionace. Tento způsob má významný ochranný účinek na zdravé tkáně ve smyslu pozdních změn, ale přináší větší akutní změny. U nádorů hlavy a krku byla při hyperfrakcionaci prokázána lepší tolerance vyšších ložiskových dávek při nižších jednotlivých dávkách 1,15-1,2 Gy aplikovaných 2krát denně [177, 377]. Výsledky studií, které se zabývaly prognózou u hyperfrakcionačních schémat, jsou ve vzájemné kontradikci. Jedny prokázaly delší dobu přežití při hyperfrakcionaci [284], jiné rozdily mezi hyperfrakcionací a konvenčním ozařováním nenalezly [143].

Akcelerovaná frakcionace znamená zkrácení celkové doby záření prostřednictvím podání více frací denně. Jednotlivá frakční dávka je oproti konvenční frakcionaci mírně snížena, ale týdenní dávka je zvýšena. Zkrácením trvání léčby by mělo zabránit repopulaci kmenových buněk nádoru, která u dlaždicobuněčných karcinomů začíná zhruba po 4 týdnech [377]. Urychlení lze dosáhnout podáváním dvou nebo více stejných frací denně od samého počátku radioterapie. Díky vyšší celkové týdenní dávce však dochází k významnější akutní reakci zdravých tkání, proto je někdy nezbytné ozařovací běh přerušit (tzv. split technika) [352, 365]. Split technika ozařování je

z radiobiologického hlediska nevhodný postup, neboť pauza může vést k repopulaci nádorových buněk. Z tohoto důvodu se na většině radioterapeutických pracovištích od split techniky radioterapie ustupuje. Elegantnější možností je, že se ve druhé nebo třetí denní dávce cílový objem omezuje pouze na oblast maximálního postižení (tzv. konkomitantní dosycení – boost). V tomto případě není nutné terapii přerušovat. Některé studie uvádějí při této technice lepší lokální kontrolu a větší pravděpodobnost přežití [305]. Do klinické praxe radioterapie bylo u nádorů hlavy a krku zavedeno také hyperfrakcionované ozařování 3x denně, kontinuálně i přes víkend (kontinuální hyperfrakcionovaná akcelerovaná radioterapie - CHART). Podle některých studií však toto dramatické zkrácení celkové doby záření z 6 týdnů na 12 dní nepřináší další zlepšení [287]. V některých centrech ve Velké Británii a dalších zemích Commonwealthu se praktikují starší schémata akcelerované frakcionace, kdy se ozařuje většími celkovými denními dávkami do 3,5 Gy po dobu 3 týdnů. Souhrnně nižší totální dávka dosahuje hodnoty 52-55 Gy [349].

Pro frakcionaci v radioterapii nádorů hlavy a krku nejsou dosud stanoveny jasné guidelines. Ačkoliv se konvenční frakcionační schémata, zvláště u rizikových pacientů, nezdají být zcela optimální, důkazy pro prognostický přínos hyperfrakcionačních režimů dodnes chybí.

#### **4.7.2.4 Techniky radioterapie [166, 177, 263, 331]**

Existují dvě diametrálně odlišné techniky radioterapie – zevní radioterapie (externí, teleterapie) a brachyterapie. U zevní radioterapie je zdroj záření mimo tělo ozařovaného pacienta, zpravidla ve vzdálenosti 80-100 cm od těla pacienta, resp. od osy rotace ozařovacího přístroje. Při brachyterapii je zdroj záření zaveden do těsné blízkosti ložiska nebo přímo do orgánu či tkáně s nádorem, event. do jeho lůžka. Obě metody se používají samostatně nebo se v indikovaných případech vzájemně doplňují. Kombinace zevní radioterapie a brachyterapie (tzv. boost technika) je s výhodou využívána například u karcinomu jazyka, neboť umožňuje zvýšit lokální dávku bez navýšení rizika nežádoucích účinků záření [145].

Moderní teleradioterapie nádorů hlavy a krku spočívá v použití megavoltážních přístrojů produkujících energii 4-6 MeV. Přístroje s větší energií nejsou vhodné z důvodu poddávkování struktur ležících pod povrchem. Dnes nejčastěji užívaným zdrojem záření pro zevní radioterapii je lineární urychlovač, který produkuje záření X (brzdné, rentgenové záření) nebo také elektrony. Prudkým zabrzděním elektronů urychlených v urychlovací trubici vznikají na úkor jejich kinetické energie fotony brzdného záření. Na základě rozptýlení elektronů do plochy ozařovacího pole může vzniknout  $\beta$ -záření. Zdroje využívající jaderné  $\gamma$ -záření, tedy energii vznikající rozpadem jádra radioizotopu (např.  $^{60}\text{Co}$  a  $^{137}\text{Cs}$ ), jsou dnes stále více nahrazovány lineárními urychlovači a mají uplatnění hlavně při paliativní a nenádorové léčbě radiací. Z hlediska přesnějšího naplánování ozařovaného pole je zvláště výhodné záření elektrony. Záření urychlenými neutrony je vzácně indikováno u pomalu proliferujících tumorů, například adenoidně cystického karcinomu. V poslední době se u nádorů hlavy a krku začínají klinicky využívat protony a těžké ionty [142, 237].

V brachyterapii se užívá uzavřených zářičů. Ty jsou na přechodnou dobu nebo permanentně implantovány přímo do nádoru či jeho lůžka a tím je v dané lokalizaci dosaženo vysoké dávky záření. Velikost zdrojů je velmi malá a podle klinických potřeb jsou formovány do tvaru zrn, pelet, disků, válečků aj. (např. iridiový zdroj má tvar válečku o průměru asi 1 mm a délce 5 mm). Emitují fotonové  $\gamma$ -záření a elektronové  $\beta$ -záření. Permanentní zdroje záření slouží většinou k léčbě uzlinových metastáz a mohou být součástí vstřebatelných stehů. Nejčastěji se používají izotopy

$^{198}\text{Au}$ ,  $^{125}\text{I}$  a  $^{103}\text{Pd}$ . Poslední dva jmenované emitují nízkoenergetické paprsky  $\gamma$  o hodnotě 28 kV, respektive 20-25 kV. Častější je použití přechodných zdrojů k tzv. afterloadingové metodě brachyterapie. Do předem manuálně zavedených aplikátorů se následně automaticky zavedou zdroje záření ve formě izotopů  $^{192}\text{I}$  nebo  $^{125}\text{I}$ . Technika aplikace probíhá ve dvou fázích. V neaktivní fázi se zavádí aplikátory a radioopákní makety zdroje záření, kontroluje se jejich geometrie pomocí RTG nebo CT a je provedena kalkulace dávky. V průběhu této fáze je možno zavedení aplikátorů upravit. V aktivní fázi je zaveden zdroj záření do aplikátorů v přesně stanovených polohách. Kombinuje-li se brachyterapie s teleradioterapií, léčebný výsledek je kriticky ovlivněný časovým odstupem obou technik. Doporučuje se prodloužení maximálně 3 týdny [262, 299].

#### 4.7.2.5 Plánování radioterapie [77, 166, 263, 331, 332]

Protože dlaždicobuněčné karcinomy mají tendenci zakládat lymfogenní metastázy, jsou při zevní radioterapii do ozařovaného pole zavzaty i spádové mízní uzliny. Rozsah ozáření je definován extenzí patologického procesu a předpokládaným rizikem dalšího šíření. Minimální celková dávka záření musí být dostatečná ke zvládnutí mikrometastáz, při prokázaném uzlinovém postižení se zvyšuje.

Ke standardní léčebné metodě dnes patří trojrozměrná konformní radioterapie (3D-CRT). Na rozdíl od dřívější konvenční 2D radioterapie, u které jsou ozařovací pole prakticky pravouhlá, je u konformní terapie možné ozářit nepravidelný objem tkáně. To je zabezpečeno použitím vykrývacích bloků nebo tzv. vícelamelových kolimátorů. Cílové struktury jsou tak ohrazené minimálním lemem a zatížení okolních zdravých tkání je menší. Celková dávka může být vyšší, což přináší větší lokální kontrolu, event. i lepší prognózu onemocnění. Základem pro 3D plánování je použití trojrozměrných zobrazovacích vyšetření – CT, MRI nebo PET. Významnou součástí provedení konformní techniky radioterapie s nižší radiační zátěží zdravých tkání a orgánů je použití speciálních polohovacích a fixačních pomůcek. Při ozařování v oblasti hlavy se používají individuálně zhotovené fixační masky z termoplastického materiálu [25].

Mezi preciznější formy 3D-konformní radioterapie patří radioterapie s modulovanou intenzitou svazku (IMRT – Intensity Modulated Radiation Therapy). Vyniká schopností ozařovat geometricky složitější cílové objemy, například i s konkávním průběhem, což standardní konformní radioterapie není schopna provést. Toto vše se odehrává za současného maximálního šetření zdravých struktur. Umožňuje také nehomogenní distribuci dávky v cílovém objemu. Používá se především při umístění nádorového procesu v blízkosti kritických struktur (např. míchy). V průběhu jednoho ozáření je tedy možné zároveň aplikovat vyšší dávku na oblast nádoru a nižší dávku na oblast předpokládaného mikroskopického postižení (tzv. simultánní integrovaný boost, SIB). IMRT technika je hojně používaná právě u nádorů hlavy a krku [118] a dále také u nádorů baze lební, mozku, prostaty, gynekologických malignit a nádorů pánve [25].

Další moderní metodou je stereotaktické ozáření. Vychází z principu stereotaxe, kdy k přesnému zasažení cílového objemu dochází pomocí koordinačního systému a trojrozměrné zobrazovací metody. Dále je tato metoda radioterapie charakterizována prudkým poklesem dávky mimo cílový objem. Lze tak aplikovat vysoké dávky záření. Stereotaktické ozáření je využíváno v léčbě intrakraniálních (včetně intraokulárních lokalizací) nebo extrakraniálních tumorů. Při terapii intrakraniálních lézí se ozařovaná část těla pacienta fixuje pomocí stereotaktického rámu (stereotaktická radiochirurgie) či stereotaktické masky (stereotaktická radioterapie). Pojem



stereotaktická radiochirurgie označuje jednorázové ozáření vysokou celkovou dávkou, kterým se napodobuje chirurgický výkon. Při stereotaktické radioterapii je vyšší dávka rozdělena do několika frakcí. Na rozdíl od stereotaktické radiochirurgie lze tuto metodu použít i k ozáření větších ložisek. Nejužívanějšími přístroji pro stereotaktickou radiochirurgii jsou Leksellův gama nůž a lineární urychlovač produkující záření X. Lineární urychlovač lze, na rozdíl od gama nože, využít i pro stereotaktickou radioterapii. Stereotaktické systémy s těžce nabitými částicemi jsou méně časté. Nejvíce se stereotakticky ozařují intrakraniální patologické procesy, z extrakraniálních lokalizací se metoda využívá u nemalobuněčného plicního karcinomu, jaterních metastáz či nádorů prostaty a páteře. Do praxe je zaváděna i při léčbě nádorů hlavy a krku, zejména jako boost technika nebo u rekurentních forem rakoviny [58, 139, 182, 279, 283, 307, 351, 363].

#### **4.7.2.6 Biologické účinky záření [88, 166, 177, 185]**

Cílovou kritickou strukturou pro vznik radiačního poškození je DNA, ovlivněné jsou ale i další celulární struktury. Interakce záření s molekulami DNA probíhá dvěma cestami - přímo nebo nepřímo. Přímý účinek je do jisté míry omezený pro malé množství DNA v buňce. Může dojít k poškození řetězců DNA tvorbou zlomů, které jsou zpravidla pro buňku letální. Mnohem častěji (asi v 70 %) dochází k nepřímé interakci. Nepřímý účinek radiace je značně komplikovaný. Substrátem nepřímé interakce je voda, která je obsažena ve většině buněčných struktur. Účinkem záření dochází k radiolýze vody za vzniku radikálů  $H^{\cdot}$  a  $OH^{\cdot}$  a hydratovaných elektronů  $e_{aq}^{\cdot}$ , jež jsou biologicky aktivní a reagují se strukturami DNA. Vzniká primární (reparabilní) poškození buňky. Postupný rozvoj radiačního poškození makroorganismu probíhá v několika na sebe navazujících fázích, pro které je charakteristické, že čas potřebný k jejich uskutečnění a dovršení se postupně prodlužuje řádově od  $10^{-16}$  sekundy na úrovni fyzikálních interakcí přes chemické, biochemické až ke konečným biologickým efektům, které se manifestují v širokém rozmezí minut až let. Stupeň poškození je odvislý především o dávky záření a její distribuci v těle, času expozice záření a reparačních schopnostech organismu. Při vystavení tkáně ionizujícímu záření lze sledovat 4 fáze radiobiologického procesu [177]:

1. Fáze fyzikální – je charakterizována přenosem kinetické energie částice na látkové prostředí. V této fázi se může uplatnit také přímý efekt ionizujícího záření s ireparabilním poškozením DNA. Kromě toho následkem předáním kinetické energie ve vodním prostředí dochází k excitacím a ionizacím atomů a molekul. Vznikají klastry volných iontů a radikálů.
2. Fáze fyzikálně-chemická – dochází k rekombinacím radikálů a iontů, k jejich difúzi a reakcím s biomolekulami prostředí. Poškození buněk nastává nepřímým mechanismem.
3. Fáze buněčná – v tomto období v buňkách dochází k enzymatickým reakcím, probíhá reparace vzniklých poškození (zejména jednoduchých zlomů DNA). Je zpravidla zpomalen průchod buněčným cyklem.
4. Fáze tkáňová – je charakterizována poškozením buněk a tkání. Buněčné populace a tkáně mohou reagovat rychle řádově v hodinách a dnech. Hovoří se o inaktivaci, sterilizačním účinku nebo mitotické smrti. Patologické účinky záření se mohou projevit také s delším časovým odstupem během měsíců až roků. Potom jsou buď důsledkem tkáňových reparací závažných časných poškození (jizevnaté či degenerativní procesy), nebo jsou indukovány mutacemi způsobenými zářením (nádory indukované zářením, genetické změny).

Účinek záření se projevuje jak na úrovni molekulární (účinek na DNA, geny), tak na úrovni buněčné (změny proliferační aktivivity). Poškození DNA může být různě závažné. Ne všechny navozené změny vyústí v biologické poškození. Jednoduché zlomy mohou být velmi rychle opraveny, a nemusí proto mít letální důsledky. Naopak dvojité zlomy jsou pro buňku zpravidla fatální. Buněčná smrt nemusí nastat již po prvním dělení, ale až jako následek kumulace změn. Radiosenzitivita je různá v různých fázích cyklu. Nejkritičtější je v místech přechodů G1/S fáze a G2/M fáze. Dalším účinkem radiace je ovlivnění exprese genů. Ozáření vede k aktivaci proteinkinázy C a tím k aktivaci řady onkogenů. Dále může zářením dojít k indukci některých cytokinů, jako je bazický fibroblastový růstový faktor (bFGF), destičkový růstový faktor (PDGF) a tumor nekrotizující faktor alfa (TNF- $\alpha$ ). Aktivují se i některé enzymy, např. tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA). Produkce jiných proteinů může být naopak utlumena (např. topoizomeraza I). Radiací indukované nebo suprimované proteiny se uplatňují v proliferačních a reparačních procesech [74]. Inhibice buněčné proliferace se nejdříve projevuje u rychle se dělících buněk. Tato skutečnost platí stejně tak pro zdravé tkáně, jako pro nádorovou populaci. Rychlá odpověď však nemusí souviset se závažností nežádoucích účinků záření nebo s celkovým léčebným výsledkem.

#### 4.7.2.7 Nežádoucí účinky radioterapie [88, 166, 177, 185, 263]

Výše bylo zmíněno, že záměrem radioterapie je aplikovat nádorově letální dávku do předem určeného cílového objemu. Ideálním výsledkem radioterapie je kompletní eradikace nádoru při minimálním strukturálním nebo funkčním poškození zdravých tkání. Nežádoucím účinkům, i přes optimalizaci léčby a nejnovější ozařovací techniky, se nelze zcela vyhnout. Důvodem je rozdílný poměr mezi toleranční dávkou a dávkou tumoricidní, který vede k velké variabilitě mezi radiosenzitivitou buněk nádoru a buněk zdravých tkání. Minimální toleranční dávka TD<sub>5/5</sub> je dávka záření, která nezpůsobí více než 5 % závažných komplikací během 5 let po léčbě. Maximální toleranční dávka TD<sub>50/5</sub> způsobí u 50 % pacientů závažné postižení během 5 let. Toleranční dávky jsou rozdílné pro různé tkáně a orgány. Existují empiricky stanovené toleranční dávky, které stanovují míru rizika závažných chronických změn po ozáření. V tabulce č. 3 jsou uvedeny toleranční dávky základních orgánových lokalit pro dospělé. Při ozařování dětí jsou dávky většinou menší. Překročení tolerančních dávek může závažným způsobem snížit kvalitu života nemocného.

**Tabulka 3. Minimální a maximální toleranční dávky v závislosti na objemu ozařovaného orgánu.**  
(Převzato: Emami a kol., 1991)

Organ	TD5/5 Volume			TD50/5 Volume			End Point
	1/3	2/3	3/3	1/3	2/3	3/3	
Kidney	50	30	23	–	40	28	Clinical nephritis
Brain	60	50	45	75	65	60	Necrosis infarction
Brainstem	60	53	50	–	–	65	Necrosis infarction
Spinal cord	5cm	10cm	20cm	5cm	10cm	20cm	Myelitis necrosis
	50	50	47	70	70	–	
Lung	45	30	17.5	65	40	24.5	Pneumonitis
Heart	60	45	40	70	55	50	Pericarditis
Esophagus	60	58	55	72	70	68	Clinical stricture/perforation
Stomach	60	55	50	70	67	65	Ulceration/perforation
Small intestine	50	–	40	60	–	55	Obstruction/perforation/fistula
Colon	55	–	45	65	–	55	Obstruction/perforation/fistula
Rectum	75	65	60	–	–	80	Severe proctitis/necrosis/fistula
Liver	50	35	30	55	45	40	Liver failure

Vysvětlivky: End point – příznaky, které jsou indikací k ukončení radioterapie

Při většině radikálních postupů je používána dávka na hranici tolerance. Kromě celkové dávky záření jsou toleranční dávky také ovlivněny velikostí ozařovaného objemu, frakcionačním režimem, kombinací léčebných modalit, komorbiditami nemocného i věkem a individuální vnímavostí pacienta. Modifikací frakcionačního schématu lze ovlivnit míru nežádoucích účinků. Se zvyšováním dávky na jednotlivou frakci stoupá riziko zejména pozdních nežádoucích účinků. Naproti tomu snížením frakčních dávek při hyperfrakcionaci nebo zkrácením celkové doby ozařování akcelerovanou frakcionací mohou být pozdní nežádoucí účinky redukovány [377] (viz kapitola 4.7.2.3). Kombinace ozařování a chemoterapie často vede ke zvýšení toxicity. V terapii pokročilých stádií karcinomu hlavy a krku však může být vzhledem k výslednému efektu kombinované terapie tato vyšší toxicita akceptovatelná [110, 297]. Popisuje se tzv. rebound (návratný) fenomén, kdy po aplikaci některých cytostatik dochází ke vzniku postradiační reakce, ačkoliv byla radioterapie aplikována před měsíci či roky. Rozdíl v odpovědi na frakcionované ozáření mezi normální zdravou tkání a nádorem závisí na schopnosti reparace subletálního poškození, schopnosti regenerace, redistribuce buněčného cyklu a reoxygenace [172, 338].

Podle rozsahu se nežádoucí účinky radioterapie dělí na systémové a na místní. Systémové příznaky nebo také postradiační syndrom se objevují při ozařování větších objemů. Nejčastěji se projevují jako únava, snížení chuti k jídlu, nevolnost, zvracení, letargie nebo jiné psychické změny. Typickým obrazem jsou systémové účinky při ozařování břicha. Mezi další systémové nežádoucí účinky patří negativní ovlivnění krve tvorby, které se projeví hlavně při velkoobjemových ozařování nebo při ozařování malé pánve. Riziko narůstá při kombinaci s myelotoxickou chemoterapií. Jde především o leukopenii, trombocytopenii a anémii (nejcitlivější na záření jsou leukocyty). Lokální změny jsou vázány na ozařovanou oblast.

Z klinického hlediska jsou nežádoucí účinky hodnoceny podle nástupu jako časně, pozdní a velmi pozdní. Akutní (časně) nežádoucí účinky vyplývají z přímého poškození tkání a orgánů senzitivních na záření. Projevují se již v průběhu nebo do tří měsíců po skončení radioterapie. Nejvýraznější jsou u tkání s rychlou buněčnou proliferací. Na rozdíl od pozdních nežádoucích účinků jsou tyto změny většinou reparable. Jejich intenzita souvisí s celkovou dávkou a trváním radioterapie, výraznější jsou při konkomitantní chemoterapii a při závažných komorbiditách. Vyššího stupně také dosahuje u hyperfrakcionace nebo akcelerované frakcionace. Ke stanovení stupně intenzity se nejčastěji užívají kritéria stanovená Radiation Therapy Oncology Group (RTOG). Jednotlivé stupně nežádoucích projevů (1-4) u konkrétních lokalizací jsou uvedeny v příslušných publikacích.

Pozdní nežádoucí účinky nastupují po skončení radioterapie v období několika týdnů, měsíců či let. Vyskytují se převážně v tkáních s nízkým obratem buněk, tj. v pojivové tkáni, v cévách, plicích, srdci, ledvinách, nervové tkáni, játrech a svalech. Jedná se zejména fibrotické změny kůže a podkoží, atrofii pokožky, lymfedém rezultující z poruchy mikrovaskularizace, kataraktu, myelopatii, fibrózu močového měchýře, nefropatii, osteoporózu až osteoradionekrózu, chronický vřed atd. S pozdními nežádoucími účinky se také setkáváme po ozáření vyvíjejících se tkání u dětských pacientů. Typickými následky jsou zde poruchy růstu dlouhých kostí, změny ve vývoji chrupu, hypoplazii až aplazii mléčné žlázy, poruchy žláz s vnitřní sekrecí katarakta, hypoplazie svalstva nebo atrofie mozkové kůry. Na rozdíl od akutních změn jsou pozdní změny ireverzibilní. Pozdní změny mohou vznikat náhle nebo postupně, někdy jim předchází výraznější akutní reakce, která predikuje přechod v pozdní reakci. Většinou ale výrazné akutní reakce neznamenají zvýšené riziko pozdních změn. Pozdní změny jsou podmíněny především vyšší jednotlivé frakční dávky. Nejsou příliš závislé na celkové dávce a trvání radioterapie. Zejména pozdní nežádoucí účinky nelze, i při pečlivě naplánované radiační léčbě, zcela eliminovat.

Velmi pozdní změny se mohou objevit až mnoho let po ukončení radiace. Počítáme k nim mutace vzniklé ozařováním, na jejichž podkladě mohou vznikat sekundární malignity. Příkladem sekundárního nádoru je karcinom prsu po radiační léčbě Hodgkinovy choroby mediastina v dětství. Velmi pozdní změny jsou, na rozdíl od časných a pozdních nežádoucích účinků, podmíněny stochastickým neboli bezprahovým účinkem záření. Znamená to, že se stoupající dávkou záření neroste závažnost poškození, ale zvyšuje se pravděpodobnost jeho výskytu.

V návaznosti na podpůrnou léčbu je vhodné rozdělení akutních nežádoucích účinků podle jednotlivých orgánových systémů. V následujícím přehledu jsou uvedeny pouze ty nežádoucí účinky, které přicházejí do úvahy v souvislosti s radioterapií nádorů hlavy a krku:

### ***Kůže***

Při moderní radioterapii megavoltážními ozařovači není maximální dávka záření soustředěna na povrch kůže (neplatí pro ozařování elektrony nebo neutrony). Reakci lze očekávat při ozařování kožních nádorů nebo tehdy, zasahuje-li cílový objem těsně k povrchu kůže. Konkomitantní terapie pravděpodobnost poškození kůže zvyšuje. Klinickými projevy jsou erytémem, suchá deskvamace, pruritus, později i vlhká deskvamace až ulkus. Chronické změny se objevují po měsících a letech v podobě atrofií a změn pigmentace kůže, fibrotizací kůže a podkoží, epilací, poškozením mikrovaskulatury se vznikem teleangiektázií a lymfedémů. Bývá ovlivněna funkce kožních adnex, tj. potních a mazových žláz, dochází ke ztrátě ochlupení a vlasů v ozařované oblasti. Alopecie může být přechodná nebo trvalá.

### ***Sliznice***

Poškození sliznic zářením je způsobené inhibicí proliferace rychle se dělících buněk. Nejprve dochází k rozvoji erytému a edému, poté se objeví fibrinové povlaky. Porušená slizniční bariéra se stává vstupní branou bakteriální či mykotické infekce. V dalším rozvoji se

mohou objevit až ulcerace s krvácením. Postiradiační stomatitida je velmi nepříjemnou komplikací ozařování nádorů horního aerodigestivního traktu. Může omezovat příjem potravy a být limitujícím faktorem pokračování v radiační léčbě. Často je provázená xerostomií, kterou potencuje dehydratace a medikamenty snižující salivaci. Léčba je zdoluhavá a málo efektivní, v řadě případů je xerostomie trvalá. Důležité je hlavně předcházet jejímu vzniku ochranou co největšího objemu slinných žláz vysoce konformní technikou IMRT. Doporučuje se i podávání některých radioprotektiv během radioterapie [3, 286]. Udává se, že k produkci slin postačí 10-20 % zachovalého žlázového epitelu. Další příznakem, zhoršujícím kvalitu nemocného, je snížené vnímání chuti (hypogeuzie), která může se stoupající dávkou vyústit k úplné ztrátě chuti (ageuzii). V oblasti jícnu se slizniční změny projevují symptomy ezofagitidy s polykacími obtížemi.

### ***Štítná žláza***

Riziko hypothyreoidismu po ozařování při nádorech hlavy a krku je známé více než 50 let [87]. Je nutno s ním počítat i při radioterapii karcinomů prsu (ozařování svodné lymfatické oblasti), maligních lymfomů a při kraniospinálním ozařování u dětí. Udává se kritická dávka 24 Gy [177]. Komplexní ochrana štítné žlázy je zejména vzhledem k sekundárnímu záření problematická. Poruchám štítné žlázy po radioterapii hlavy a krku se speciálně věnuje experimentální část této dizertační práce.

## *Nervový systém*

Ozařování mozku se indikuje u primárních tumorů a k paliativní léčbě mozkových metastáz. Samotná mozková tkáň naštěstí není příliš radiosenzitivní. Terapie může být provázena bolestmi hlavy, zvracením, poruchami vizu a motoriky v důsledku edému a zvýšenému intrakraniálnímu tlaku. Za 6-12 týdnů po ukončení ozáření se může objevit syndrom somnolence. Obtíže ustupují spontánně v průběhu týdnů až měsíců. Pozdní změny mohou postihovat funkci hlavových nervů, kognitivní funkce a neuroendokrinní systém. Mícha je poněkud citlivější. Při jejím ozáření může propuknout akutní dočasná myelopatie označovaná jako Lhermitteův syndrom. Projevuje se ostrými záškuby či parestéziemi, které vyvolává fyzická aktivita. Příznaky odeznívají většinou spontánně. Závažnou komplikací je pozdní chronická myelitida, která může nastat i po ozáření pro karcinom horního respiračního traktu [221].

## *Zrakový orgán*

Akutním projevem poškození oka je konjunktivitida. Ozářením slzných a mazových žláz může dojít k útlumu jejich sekrece a nepříjemnému syndromu suchého oka. Vyšší dávky radiace mohou vést k nevratnému poškození očního nervu. Nejvíce citlivou oční tkání je oční čočka, kde se jako pozdní příznak vyvíjí katarakta. K výše popsaným nežádoucím účinkům dochází zejména při ozáření tumorů vedlejších nosních dutin invadujících do orbity [155].

## *Vazivová a kostní tkáň*

Obě tkáně jsou poměrně radiorezistentní. Největší riziko poškození je u dolní čelisti díky jejímu chabému unilaterálnímu cévnímu zásobení. Po dávkách kolem 60 Gy může dojít ke vzniku osteroradionekrózy. Pravděpodobnost jejího vzniku zvyšuje infekce dutiny ústní, trauma nebo chirurgický výkon, nicméně osteoradionekróza může být i idiopatická. Incidence osteroradionekrózy po radioterapii nádorů hlavy a krku vysokými dávkami se udává okolo 15 % [3].

Léčba postradiačních komplikací je víceméně symptomatická. Důležité je předcházet vzniku nežádoucích účinků pečlivým plánováním radioterapie a vhodnou ozařovací technikou. Význam má i dodržování preventivních opatření ze strany pacienta. Přesto nelze všem nežádoucím účinkům zcela zabránit.

### **4.7.3 Chemoterapie**

Na rozdíl od jiných lokalit má chemoterapie u nádorů hlavy a krku poněkud zvláštní postavení a její optimální zařazení do komplexní léčby je stále předmětem četných studií. Důvodem je omezená citlivost dlaždicobuněčných karcinomů na cytostatika. Odpověď na monoterapii zřídka přesáhne 30 %, a to i u látek považovaných v této indikaci za nejúčinnější [177]. Nejpoužívanějšími cytostatiky jsou metotrexát, cisplatina, karboplatina, bleomycin, 5-fluorouracil, hydroxyurea a taxany. Zdá se, že kombinovaná chemoterapie, ačkoliv je zatížena větší toxicitou, může výrazně prodloužit bezpříznakové období a mírně ovlivnit i dobu přežití [292]. Indikačními kritérii polychemoterapie je věk nemocného a celkový zdravotní stav. Adjuvantní chemoterapie jako standardní postup po chirurgickém výkonu a radioterapii není jednoznačně akceptována. Bývá provázena neúnosným toxickým účinkem na zdravé tkáně. Stoupající oblibě se naopak těší neoadjuvantní (indukční) chemoterapie. Podáním 2-3 cyklů lze dosáhnout zmenšení tumoru (tzv.

down-staging) a zvýšení stupně diferenciace (tzv. down-grading). Zvláště v kombinaci s následnou aplikací radioterapie může být terapeutický účinek natolik příznivý, že je možné upustit od původně plánovaného chirurgického výkonu. Důkazem užitečnosti neoadjuvantní chemoterapie chemoterapie je například studie Pignona a kol. [265], která prokázala signifikantní prodloužení bezpříznakového období a mírné prodloužení celkové doby přežití o 4-6 %. Další léčebnou variantou zlepšující prognózu u pokročilých nádorů hlavy a krku je konkomitantní chemoterapie. Výhoda simultánní aplikace cytostatik a záření se spatřuje jednak v synergním antiproliferačním účinku, a jednak v potenciaci účinku radioterapie zvýšením citlivosti nádorových buněk na ozáření. Nevýhodou je sumace nežádoucích účinků obou modalit projevující se zejména těžkou mukozitidou, méně často pak útlumem krvetvorby. Nejčastěji se aplikuje cisplatina vždy 1. den v týdnu při obvyklém frakcionačním režimu. Specifickou formou podávání cytostatik je intraarteriální chemoterapie. Umožňuje podání vyšších koncentrací cytostatika při nižší celkové toxicitě. Může být ale provázena jinými nežádoucími účinky, například trombózou, krvácením, infekčními komplikacemi atd. [228].

#### 4.7.4 Biologická léčba

Biologická léčba je možná buď prostřednictvím modulace imunitní odpovědi, nebo genovou terapií. Imunomodulační terapie v užším slova smyslu spočívá v podávání monoklonálních protilátek. Nejvíce klinických zkušeností je s léky blokujícími receptor pro epidermální růstový (EGFR). Existuje řada studií, které naznačují jejich potenciál v léčbě pokročilých stádií a rekurentních karcinomů hlavy při konkomitantní aplikaci s radioterapií nebo chemoterapií [32, 277, 300]. Podmínkou úspěšnosti léčby je exprese EGFR nádorovými buňkami a nepřítomnost *K-ras* mutace.

Principem genetické terapie je inkorporovat genetický materiál do genomu nádorových buněk a způsobit regresi tumoru. Děje se tak přímým nahrazením funkce mutovaných genů, konverzí protinádorových léčiv z prolátek na aktivní metabolity nebo indukci jiných mechanismů vedoucích k buněčné smrti. Včlenění genetického materiálu do genomu hostitelských buněk je zprostředkováno virovými a neviróvými vektory (adenoviry, retroviry, lipozomální vektory atd.). Navzdory dobrému transfekčnímu účinku většiny vektorů není technicky možný přenos do všech nádorových buněk [116]. Potenciálním přístupem k terapii karcinomů hlavy a krku je nahrazení mutovaného tumor supresorového genu *p53*. Přenos divokého typu *p53* (normálního, nezmutovaného) se realizuje pomocí adenovirového nosiče. Důsledkem je kromě indukce apoptózy maligních buněk také zvýšení jejich radiochemosenzitivity [133]. Limitující mohou být častá nepřítomnost mutace *p53* a potíže s vektorovým přenosem. Přes slibné výsledky pilotních studií bude možné posoudit přínos této modalit až po zhodnocení léčebných výsledků na početnějších souborech nemocných [60, 261]. Jiné formy korektivní genové terapie, které se zaměřují na tumor supresorové geny *p16*, *p21* a *Rb*, se zatím testují na animálních modelech [61, 278].

Citlivost buňky na cytostatickou léčbu lze zvýšit či snížit modifikací jejího genomu. Například expresí genu pro nitroreduktázu přeneseného do nádorových buněk dochází ke konverzi neaktivní prolátky CB1954 v potentní cytostatickou substanci [289]. Opačnou strategií je zvýšení rezistence u buněk citlivých na chemoterapii (např. u buněk hematopoetického systému). Včleněním genů zvyšujících rezistenci proti chemoterapii se umožní podání větší cytostatické dávky za současného omezení nežádoucích účinků [387].

Jinou možností biologické léčby je stimulace imunitního systému transgenozí DNA viru do genomu nádorové buňky. Příkladem může být virus ONYX-15. Je to podmíněně replikující adenovirus,

z jehož genomu byla odstraněna oblast *E1B*, která za normálních okolností inaktivuje tumor supresorový gen *p53* v hostitelské buňce a umožňuje tak replikaci tohoto viru. Zatímco v normálních buňkách ONYX-15 není schopný replikace, v buňkách tumoru postrádajících funkční *p53* k ní může dojít. Klinická data jsou sice povzbuzující, randomizované studie na větších souborech však zatím chybějí [107, 174, 250]. S obdobným onkolytickým záměrem se využívají i herpes simplex viry, virus vakcíny a jiné. [138, 146, 201, 206, 259, 324, 342, 357].

Dalším možností genové imunomodulace je přenos sekvencí kódující antigeny. Komerční preparát Allovectin-7 je plasmido-lipidový komplex kódující aloantigen HLA-B7 hlavního histokompatibilního komplexu (MHC). Zvyšuje schopnost imunitního systému rozpoznat a zničit nádorové buňky. [115, 117].

Perspektivním cílem genové terapie by mohl být proces angiogeneze. Má se za to, že up-regulací antiangiogenních nebo naopak down-regulací proangiogenních faktorů bude možné kontrolovat růst tumoru. Podobné úvahy se směřují k regulátorům apoptózy, například tumor nekrotizujícímu faktoru (TNF) [150].

## 4.8 Prognóza nádorů hlavy a krku

Navzdory neustále se rozvíjejícím diagnostickým a terapeutickým možnostem zůstávají léčebné výsledky již po více než 30 let de facto na stejné úrovni. Uvádí se, že 5leté přežití pacientů s malignitami hlavy a krku je méně než 50 % [186, 269]. Kromě vysoké mortality, je u nádorů hlavy a krku dalším problematickým aspektem kvalita života, zejména u pokročilých stádií onemocnění.

Základním prognostickým kritériem je stádium onemocnění. Některé studie prokázaly korelaci mezi zdvojovacím časem  $t_{pot}$  a prognózou [67, 144], v jiných se závislost mezi charakteristikou nádorových buněk (podle ploidie, labeling indexu, trvání S-fáze buněčného cyklu, zdvojovacího času  $t_{pot}$ ), stupněm diferenciací nádorových buněk, TNM stagingem a prognózou zjistit nepodařilo [39, 76].

Lepší léčebná odpověď a tím i lepší prognóza se udává u HPV-pozitivních nádorů. Podle studie kolektivu autorů kolem Anga a kol. [12] je 3leté přežití u nemocných s HPV-pozitivními karcinomy hlavy a krku 82,4 %, zatímco u pacientů s HPV-negativními typy pouze 57,1 %. Výsledky však mohou být zkresleny nehomogenitou souborů, neboť HPV-pozitivní tumory se vyskytují spíše u mladších jedinců.

V oblasti základních léčebných modalit (chirurgie, radioterapie, chemoterapie) již pravděpodobně nelze očekávat objevy, které by zásadním způsobem zlepšovali prognózu. Naděje se tak upírají především k výše zmíněné imunoterapii a genové terapii.



## 4.9 Štítná žláza

### 4.9.1 Anatomie

Štítná žláza (glandula thyroidea) je žláza s vnitřní sekrecí uložená vpředu na krku pod hlubokou krční fascií v úrovni obratlů C5-Th1. Její motýlovitý tvar je tvořen dvěma laloky, lobus dexter a lobus sinister, spojenými v dolní části různě širokým istmem. Variabilně z istmu vybíhá třetí lalok lobus pyramidalis, jenž sleduje dráhu sestupu cestou ductus thyroeglossus. Pyramidové laloky štítné žlázy leží podél průdušnice a hrtanu a dorzálně dosahují až k jícnu. Na povrchu je štítná žláza kryta tenkým vazivovým pouzdem (capsula fibrosa) tvořeným dvěma listy - zevním listem (capsula externa) a vnitřním listem (capsula propria), který do nitra žlázy vysílá vazivová septa oddělující menší morfologické jednotky, lobuli. Na zadní ploše laloků subkapsulárně, někdy i přímo v parenchymu štítné žlázy, jsou umístěny většinou dva páry příštítných tělísek produkujících parathormon [70]. U žen je štítná žláza větší než u mužů a ve stáří atrofuje. Kromě krční lokalizace může část štítné žlázy zasahovat do hrudní dutiny nebo v ní ležet celá [361].

Vlastní parenchym štítné žlázy má lobulární a folikulární uspořádání. Folikuly do velikosti 0,9 mm jsou tvořeny jednou řadou folikulárních buněk (tyreocytů), které do nitra váčku produkují koloid obsahující glykoprotein tyreoglobulin. Tyreocyty mohou být zcela ploché, nebo až cylindrické, v závislosti na funkčním stavu žlázy [70]. Směrem do koloidu vysílají četné mikrokly. Mezi folikuly či přímo v jejich stěně se nacházejí parafolikulární buňky neboli C-buňky produkující hormon kalcitonin [108].

Krevní zásobení štítné žlázy obstarává bohatá cévní pleteň z arteria thyroidea superior, arteria thyroidea inferior a arteria thyroidea ima uložená mezi oběma listy pouzdra. Žíly se z pleteňe sbíhají do horní, střední a dolní vena thyroidea. Vedle bohatého prokrvení má štítná žláza také hojnou lymfatickou drenáž. Z toho vyplývají možnosti metastatického šíření maligních tumorů štítné žlázy jak hematogenní, tak lymfogenní cestou [29]. Nervové zásobení je z krčního sympatiku, z horní laryngeální větve vagu a z nervus laryngeus recurrens, jehož průběh je značně variabilní [70].

### 4.9.2 Fyziologie

Štítná žláza udržuje takovou úroveň metabolismu v tkáních, jaká je optimální pro jejich normální funkci. Hormony štítné žlázy stimulují spotřebu kyslíku ve většině buněk těla, účastní se regulace metabolismu lipidů a sacharidů a jsou nezbytné pro normální růst a zrání [108, 346].

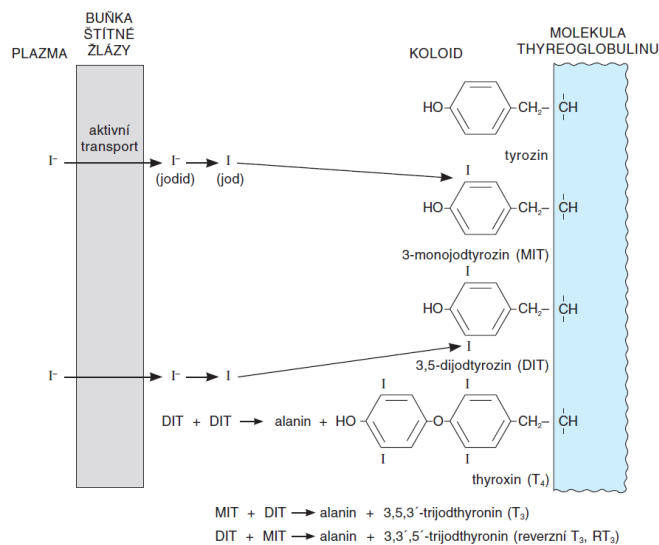
#### 4.9.2.1 Tvorba hormonů

Samotná tvorba hormonů štítné žlázy je náročný metabolický děj, na kterém se podílí řada enzymatických systémů. Zahrnuje celkem šest základních kroků:

1. Aktivní transport přes bazální membránu do tyreocytu (vychytávání jodidu).
2. Oxidace jodidů a jodace tyrosinů.
3. Spojování jodtyrosinových molekul v tyreoglobulinu a vznik hormonů T3 a T4.
4. Proteolýza tyreoglobulinu s uvolněním volných jodtyroninů a jodtyrosinů.

5. Dejodace jodtyrosinů uvnitř tyreocytu s uchováním a opětným využitím uvolněného jodidu.
6. Za určitých okolností intratyreoidální 5'-dejodace T4 na T3 [120].

Jodidové ionty jsou folikulárními buňkami aktivně přijímány z cirkulace. Transportní mechanismus se často nazývá jodidové vychytávání (trapping) nebo jodidová pumpa. Ionty  $\text{Na}^+$  a  $\text{I}^-$  se kotransportují do buněk štítné žlázy a  $\text{Na}^+$  se pumpuje do intersticia  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  ATPázou ( $\text{Na}^+\text{-I}^-$  kotransportér má 12 transmembránových domén s aminokyselinovým karboxyterminálem uvnitř buňky. Tento aktivní transport umožňuje lidské štítné žláze udržovat koncentraci jodidu 30-40krát vyšší než v plazmě. Jodidová pumpa je silně stimulována TSH a stimulačními protilátkami proti TSH receptorům (TSHRab), které se vyskytují u Gravesovy-Basedowovy choroby [120]. Ve štítné žláze se jodid oxiduje na jod a váže se na molekuly tyrosinu v thyreoglobulinu. Enzym zabezpečující oxidaci a vazbu jodidu je thyreoidální peroxidáza (TPO), současně peroxid vodíku přijímá elektrony. Monojodtyrosin (MIT) je pak jodován na pozici 5 a tvoří se dijodtyrosin (DIT). Dvě molekuly DIT pak oxidativní kondenzací vytvoří hlavní hormon štítné žlázy tetrajodthyronin (T4, thyroxin) za současného odstranění alaninového postranního řetězce z molekuly (obr. 5). Jsou dvě teorie o tom, jak tato spojovací (coupling) reakce nastává. První říká, že spojování nastává mezi oběma DIT molekulami napojenými na thyreoglobulin (intramolekulární spojování). Druhá teorie předpokládá, že DIT tvořící zevní kruh se nejprve odděluje od thyreoglobulinu (intermolekulární spojování) [108]. V každém případě se thyreoidální peroxidáza účastní spojování stejně jako jodace. Kondenzací MIT s DIT se tvoří trijodthyroninu (T3) a malé množství reverzního trijodthyroninu (rT3). Řada přírodních i syntetických látek působí antityreoidálně. Inhibují thyreoidální funkci tím, že ovlivňují mechanismus vychytávání jodidů, nebo blokují organickou vazbu jodu. Výsledným poklesem hladiny hormonů vzniká struma (strumigeny, tyreostatika).



**Obrázek 5. Schéma biosyntézy hormonů štítné žlázy (vysvětleno v textu).**  
(Převzato: Ganong, 2005)

Uvolňování hormonů z koloidu a jejich sekrece do oběhu probíhá tak, že folikulární buňky přijímají pinocytózou koloid do lysozomů, kde se činností proteolytických enzymů štěpí jejich vazba na thyreoglobulin. Hormony T3 a T4 přecházejí přes bazální membránu do kapilár, MIT a DIT jsou dejodovány mikrosomální jodtyrosindehalogenázou a uvolněný I<sup>-</sup> je uchován. U nemocných s kongenitálním deficitem dejodázy jodtyrosinů se v moči objevují MIT a DIT a vznikají projevy jodového deficitu. Kromě mikrosomální jodtyrosindehalogenázy se ve folikulárních buňkách nachází také enzym 5'-dejodáza, která v periferních tkáních konvertuje T4 na T3. Při jodovém deficitu může aktivita tohoto enzymu zvýšit množství T3 tvořícího se ve štítné žláze, čímž se zvýší metabolická účinnost syntézy hormonů [49, 120].

Tvorba i uvolňování hormonů štítné žlázy jsou řízeny thyreostimulačním hormonem adenohypofýzy (TSH, thyreotropin), zvýšená hladina hormonů štítné žlázy v krvi zpětně inhibuje výdej TSH z hypofýzy (zřejmě tím, že blokuje účinek faktoru uvolňujícího thyreoliberin, který je neurosekrecí vytvářen v hypothalamu, předáván cévám hypofyzárního portálního systému a jimi do předního laloku hypofýzy). Skutečnost, že sympatická a parasympatická nervová vlákna probíhají nejen k cévám (vazomotrické funkce), ale končí i v těsné blízkosti folikulárních buněk, naznačuje, že na sekreční funkci štítné žlázy mají vliv i nervové podněty. Vliv TSH je však zásadní [108].

#### 4.9.2.2 Transport hormonů

Normální hladina celkového T4 v plazmě u dospělých je kolem 8 µg/100 ml (103 nmol/l), hladina celkového T3 přibližně 0,15 µg/100 ml (2,3 nmol/l). Převážná část hormonů (99,98 % T4 a 99,8 % T3) je vázána na plazmatické bílkoviny - albumin, transthyretin (tyroxin vázající prealbumin, TBPA) a tyroxin vázající globulin (TBG) [346]. Fyziologicky účinnou formou jsou pouze volné thyroïdální hormony. Význam vazby na proteiny je v udržování velké zásoby snadno dostupných volných hormonů. Navíc vázané hormony nepodléhají rychlému vychytávání v tkáních a zajišťují tak rovnoměrnou distribuci hormonů v organismu. Přes největší vazebnou kapacitu albuminu, se nejvíce hormonů váže na TBG, ke kterému mají vysokou afinitu. Výše zmíněné mechanismy regulující tvorbu a uvolňování hormonů ze štítné žlázy reagují výlučně na koncentrace volných hormonů v plazmě [108].

#### 4.9.2.3 Metabolismus hormonů štítné žlázy

V játrech, ledvinách a jiných tkáních jsou hormony štítné žlázy dejodovány. Asi jedna třetina cirkulujícího T4 je u dospělých lidí konvertována na T3 a 45 % je konvertováno na rT3. Tohoto děje se účastní se dva různé enzymy – 5'-dejodáza katalyzující tvorbu T3 a 5-dejodáza katalyzující tvorbu rT3. T3 a rT3 jsou pak konvertovány na různé diiodthyroniny. Následkem nedostatečnosti 5'-dejodázy je snížené množství T3 při normální hladině T4, tzv. syndrom nízkého T3 (low T3 syndrome). Enzym může být inhibován řadou látek, nedostatkem selénu (obsahuje selenocystein) a některými patologickými stavy, například popáleninami, traumatem, pokročilými nádory, jaterní cirhózou, renálním selháním, infarktem myokardu a horečkami, hladověním. V játrech se T4 a T3 konjugují a tvoří sulfáty a glukuronidy. Tyto konjugáty se žlučí dostávají do střeva, jsou hydrolyzovány a část je enterohepatálním oběhem zpětně resorbována, část je vyloučena stolicí [176].

#### 4.9.2.4 Účinky hormonů štítné žlázy [29, 108, 120, 176]

V buňkách cílových tkání se hormony štítné žlázy vážou na receptory (TR) v jádrech. Výsledný komplex hormon – receptor poté ovlivňuje expresi různých genů kódujících enzymy, které regulují buněčné funkce. Udává se, že hormon T3 působí rychleji a asi 3-5krát účinněji než T4. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že T3 není tak těsně vázán na plazmatické proteiny, ale jeho vazba na TR receptory je silnější. Hormon rT3 je neúčinný. Účinky receptorů ovlivňují různé koaktivátorové a korepresorové proteiny. Předpokládá se, že tato komplexnost umožňuje hormonům štítné žlázy realizovat množství různorodých účinků v těle [49]:

##### *Kalorigenní efekt*

T4 a T3 zvyšují spotřebu kyslíku téměř ve všech metabolicky aktivních tkáních. Výjimkou jsou mozek, slezina, lymfatické uzliny, děloha a varlata, kde chybí pro hormony receptory. Část kalorigenního účinku je také dána utilizací mastných kyselin. Navíc hormony štítné žlázy zvyšují aktivitu membránové Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPázy v mnohých tkáních. Zvýšením úrovně metabolismu u dospělých se zvyšuje vylučování dusíku. Jestliže se při tom nezvýší příjem potravy, nastane katabolismus tělesných zásob proteinů a tuků, klesá tělesná hmotnost a dochází k řídnutí kostí. Draslík uvolněný při katabolismu proteinů se objevuje v moči a zvyšuje se exkrece hexosaminu a kyseliny močové močí. Větší dávky thyroidálních hormonů vyvolávají zvýšenou produkci tepla, tím se lehce zvyšuje tělesná teplota a dochází k aktivaci mechanismů ztrát tepla. Následkem kožní vazodilatace je snížení periferní rezistence. Tím, že zvyšují počet adrenoceptorů v srdci, mají hormony štítné žlázy obdobný účinek jako katecholaminy. Zvýšením srdeční frekvence a síly stahu (pozitivně chronotropní a inotropní efekt) celkově zvyšují srdeční výdej. Stimulací metabolismu se zvyšuje spotřeba všech vitaminů. Hypothyreóza tak může způsobit vznik syndromů z deficitu vitaminů. Hormony štítné žlázy jsou zapotřebí pro jaterní konverzi beta-karotenu na vitamin A. Nahromaděním beta-karotenu v krvi při jejich nedostatku dochází k žlutému zbarvení kůže. Kůže obsahuje rozličné proteiny, kombinované s polysacharidy, hyaluronovou kyselinou a kyselinou chondroitínsírovou, které se při normální činnosti štítné žlázy odbourávají. Při hypothyreóze se tyto hydrofilní látky v kůži, myokardu a v příčně pruhovaném svalstvu hromadí, a to vede k zadržení vody v těchto tkáních. Tím se vysvětluje oduřelý vzhled hypothyreózních pacientů (myxedém) i např. častý výskyt syndromu karpálního tunelu [94]. Hormony štítné žlázy jsou též nezbytné pro normální menstruační cyklus a fertilitu.

##### *Účinky na nervový systém*

Hormony štítné žlázy jsou nezbytné pro normální vývoj centrálního nervového systému během intrauterinního vývoje a v prvních letech postnatálního života. V mozku nejvíce ovlivňují činnost mozkové kůry a bazálních ganglií. Navíc působí i na hlemýžď vnitřního ucha. Nedostatek hormonů během vývoje se projevuje psychomotorickou retardací a surdomutismem (hluchoněmotou) [29]. Deficit v dospělosti vede k celkovému fyzickému a mentálnímu zpomalení. Naopak velké dávky hormonů štítné žlázy mohou vyvolat urychlení duševních pochodů, dráždivost a neklid. Některé účinky hormonů štítné žlázy na mozek jsou pravděpodobně důsledkem zvýšené reaktivity na katecholaminy a důsledkem toho je zvýšená aktivita retikulárního aktivačního systému. Hormony štítné žlázy též působí na reflexy. Reakční doba reflexů se při hyperthyreóze zkracuje a při hypothyreóze prodlužuje.

### *Účinky na srdce a kosterní svaly*

Účinky hormonů štítné žlázy na srdce jsou rozmanité. Některé z nich jsou způsobeny přímým vlivem T<sub>3</sub> na myocyty, jiné interakcí mezi hormony štítné žlázy, katecholaminy a sympatickým nervovým systémem. Přímé působení na myocyty spočívá v ovlivnění typu myosinu srdečního svalu. Tím se zvyšuje rychlost srdečních stahů. Zvýšením počtu a afinity β-adrenergických receptorů dochází k zvýšení citlivosti na inotropní a chronotropní účinky katecholaminů. Kromě toho celková akcelerace metabolismu vyvolává hemodynamické změny a zvýšení srdečního výdeje (viz výše).

V kosterních svalech hormony štítné žlázy zrychlují metabolismus proteinů. U většiny nemocných s hypertyreózou vzniká svalová slabost (tyreotoxická myopatie). Svalová slabost může být zčásti způsobena zvýšeným katabolismem proteinů. Hypothyreóza je také spojena se svalovou slabostí, křečemi a svalovou ztuhlostí.

### *Účinky na metabolismus sacharidů, lipidů a cholesterolu*

Hormony štítné žlázy stimulují glukoneogenezi a glykogenolýzu v játrech a resorpci glukózy ze střeva. Hypertyreóza může vést ke klinické manifestaci diabetu [94]. Při hypertyreóze hladina krevního cukru po jídle bohatém na cukry rychle stoupá, rychle však znovu klesá.

Hormony štítné žlázy snižují hladinu cholesterolu v krvi. Pokles plazmatické koncentrace cholesterolu je způsoben zvýšenou tvorbou receptorů pro LDL v játrech, což vede k zrychlenému odstraňování cholesterolu z krve. Naopak při hladovění plazmatická hladina LDL roste díky sníženému počtu receptorů T<sub>3</sub> v játrech [354].

### *Účinky na růst*

Hormony štítné žlázy jsou nezbytné pro normální růst a zrání skeletu. Tyto procesy ovlivňují stimulací osteoblastů (syntézou alkalické fosfatázy, kolagenu, osteokalcinu a růstového faktoru IGF-1) a osteoklastů. Zvýšený kostní obrat u hypertyreózy může vyústit v osteoporózu. U dětí s deficitem hormonů se kostní růst zpomaluje a uzavírání epifyzárních štěrbin se opoždí [30]. Tyreoidální hormony také stimulují sekreci růstového hormonu a potencují jeho účinek na tkáň.

#### **4.9.3 Stanovení hormonů štítné žlázy [199, 389]**

Ke stanovení hormonů štítné žlázy, vazebných proteinů a protilátek v biologickém materiálu se v posledních letech používají převážně imunohistochemické metody, které jsou založeny na specifické reakci antigen-protilátka. Podle systému uspořádání je můžeme dělit na [199]:

**kompetitivní stanovení**, při kterém antigen ze vzorku soutěží se stejným, ale značeným antigenem ze soupravy o omezené množství protilátky. Původní koncentrace stanovovaného analytu je nepřímo úměrná intenzitě signálu;

**nekompetitivní (sendvičové) stanovení**, při němž je antigen ze vzorku vychytáván mezi dvě protilátky, které se vyskytují v reakční směsi v přebytku. Původní koncentrace stanovovaného analytu je přímo úměrná intenzitě měřeného signálu.

Další dělení se provádí podle typu značení a způsobu měření signálu. Nejběžnější je radioimunoanalýza, enzymoimunoanalýza, fluoroimunoanalýza a luminiscenční imunoanalýza.

Specificita a senzitivita testů je dána druhem používané protilátky a způsobem detekce. Využívají se protilátky monoklonální nebo polyklonální. Obecně platí, že vyšší specifitu mají monoklonální protilátky a vyšší senzitivitu protilátky polyklonální [23].

### ***Radioimunoanalýza***

Je metoda používaná od 60. let 20. Století [245]. Nejčastější značkou je  $\gamma$ -zářič  $^{125}\text{I}$  s poločasem rozpadu asi 60 dní. U některých suprav se používá  $\beta$ -zářič  $^3\text{H}$ , který má poločas přes 12 let a jeho detekce je složitější. Radioimunoanalýza je dostupná nejen v kompetitivním uspořádání RIA (radioimmunoassay), ale i v sendvičovém uspořádání IRMA (immunoradiometric assay) [20]. Obě metody mají poměrně dobrou reprodukovatelnost.

### ***Enzymoimunoanalýza***

Jak značky se používají enzymy. Nejčastěji používanými enzymy jsou peroxidáza, alkalická fosfatáza (ALP) a  $\beta$ -galaktosidáza. Měření signálu je závislé na produktu konečné enzymatické reakce, nejčastěji jde o různé barevné produkty. Oblíbenou a nenáročnou technikou je ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). I zde je možno použít oba typy uspořádání, tj. kompetitivní i sendvičové [199].

### ***Fluoroimunoanalýza***

Ke značení se používají fluorofory, měří se fluorescence. Jako fluorofory slouží chelátové komplexy lanthanoidů Europia a Samaria nebo fluorescein [164, 381].

### ***Luminiscenční imunoanalýza***

Luminiscence je v poslední době používána jako neradioaktivní analytická metoda s vysokou senzitivitou. Luminifory používané ke značení nemají interference v biologickém materiálu a jsou poměrně stabilní. Nejpoužívanější je akridiniový ester, který se v alkalickém prostředí působením peroxidu vodíku rozpadá za uvolnění světelného kvanta [367].

Hormony štítné žlázy patří mezi odolné analyty, jejichž koncentrace se vlivem okolních podmínek mění pouze minimálně. Nejcitlivějším parametrem je FT4. Sérum, používané specificky pro stanovení, je potřeba separovat do 48 hodin po odběru, při laboratorní teplotě se koncentrace hormonů nemění minimálně po dobu 2 dnů, při uchování v lednici (4-8 °C) je stabilní minimálně týden, ve zmraženém stavu (-20°) více než rok [199].

Stanovení celkových koncentrací hormonů TT3 a TT4 předpokládá uvolnění jejich kvantitativně významnějších vázaných forem z vazby na plazmatické bílkoviny (např. roztokem NaOH). Stanovení volných forem FT3 a FT4 je specifické tím, že se měří koncentrace přibližně o tři řády nižší než u celkových koncentrací. Dynamická rovnováha mezi vázanou a volnou formou hormonů, spolu s interindividuální variabilitou, má za následek relativně široké rozpětí fyziologických hodnot (referenčních mezí) [389].

Pro výběr metody stanovení TSH v séru a její posouzení je rozhodující funkční senzitivita metody [211]. Vztah mezi koncentrací FT4 a produkcí TSH je logaritmicke-lineární, pokles FT4 na polovinu má za následek vzrůst TSH 160krát. Relativně významná je diurnální variabilita TSH s pulzní

sekrecí. Maximum sekrece je mezi půlnocí a 4. hodinou ranní, minimum mezi 7. - 13. hodinou. Pro klinickou praxi diurnální variabilita není příliš podstatná, neboť se většina odběrů uskutečňuje mimo období peaku [199].

Při autoimunitní destrukci štítné žlázy dochází k tvorbě protilátek proti jejím antigenním strukturám. Vyšetřování protilátek TPOAb proti thyreoidální peroxidáze a TgAb proti thyreoglobulinu má diagnostický a prognostický význam. Jsou přítomny v séru zhruba u 80-90 % autoimunitních thyreoiditid. Zvýšené hodnoty TPOAb se vyskytují u Hashimotovy chronické lymfocytární thyreoiditidy, méně zřetelné je zvýšení u Graves-Basedowovy choroby. Vyšetření TPOAb je doporučeno v I. trimestru těhotenství spolu s vyšetřením FT4 a TSH [160]. Vysoká koncentrace může upozornit na nebezpečí rozvoje poporodní thyreoiditidy a souvisí také s vyšší pravděpodobností abortu a neúspěšnými pokusy in vitro fertilizace. Zvýšené hodnoty TgAb se také vyskytují u autoimunitních thyreoiditid, avšak méně často než TPOAb. Přečasně mohou být zvýšeny u de Quervainovy thyreoiditidy. Starší pacienti mohou mít vyšší hladiny obou protilátek i bez klinicky manifestního onemocnění.

Autoimunitní protilátky proti TSH receptorům v membránách buněk štítné žlázy, označované souhrnně jako TRAK, mohou podle účinku receptor buď stimulovat, nebo blokovat [271]. Dochází-li ke stimulaci funkce, označujeme je jako TSI (thyroid stimulating immunoglobulin). Pokud mají stimulující protilátky k receptorům vyšší afinitu než TSH, dojde k déletrvající stimulaci buněk štítné žlázy a tím ke zvršené produkci hormonů T4 a T3. Protilátkami může být ovlivněna další funkce TSH, která spočívá ve stimulaci růstu buněk. Skupina protilátek imitující tuto funkci je označována jako TGAb (thyroid growth stimulating antibodies). Poslední skupinu protilátek proti TSH receptoru tvoří protilátky, které po navázání blokují jeho funkci, označované jako TBII (thyrotropin binding inhibitory immunoglobulin). Vyšetření TRAK se indikuje při diferenciální diagnostice hypertyreózy. Dovoluje rozlišit mezi hyperthyreózami autoimunitního a neautoimunitního původu a slouží k monitorování terapie. Zvýšené hladiny nacházíme u Graves-Basedowovy choroby či Hashimotovy chronické lymfocytární thyreoiditidy.

Některé produkty štítné žlázy se využívají jako nádorové markery. Například kalcitonin představuje věrohodný marker medudulocelulárního karcinomu štítné žlázy [345]. Přítomnost jiných karcinomů, zejména dobře diferencovaných, mohou prozrazovat zvýšené hladiny thyreoglobulinu. Zvýšení jeho koncentrace u pacientů po operaci karcinomu štítné žlázy může znamenat lokální recidivu nebo vznik metastáz. Další indikací k vyšetření thyreoglobulinu je přítomnost plicních a kostních metastáz z nejasného zdroje nebo existence patologických zlomenin. V těchto případech jsou hodnoty značně zvýšené. Vyšší hladiny thyreoglobulinu se vyskytují i u hyperfunkcí štítné žlázy, s výhodou se používá k monitorování léčebné odpovědi u Graves-Basedowovy choroby [199].

## 4.10 Hypothyreóza

Jednou z příčin hypofunkce štítné žlázy může být zevní ozáření krku, orofaciální oblasti nebo hrudníku z onkologické indikace. Jako subklinickou hypothyreózu pak definujeme situaci, kdy je koncentrace TSH zvýšena, ale hladiny hormonů T4 a T3 jsou ve fyziologickém rozmezí. V klinickém obraze nemusí být přítomné známky thyreoidální poruchy [199].

### 4.10.1 Příznaky hypothyreózy [29, 108, 120, 178]

V době, kdy nebyly k dispozici exaktní laboratorní metody ke sledování funkcí štítné žlázy, nebylo možné zvláště oligosymptomatické hypothyreózy zavčas detekovat a diagnostika tak vycházela až z plně rozvinutého onemocnění. Diagnóza byla velmi často založena na empirii a hypothyreóza byla mylně spojována s obezitou. Až stanovení koncentrace TSH, které se masově praktikuje od 70. let minulého století, umožnilo zachytit i bezpříznakové formy onemocnění. Projevy choroby jsou velmi individuální. Poměrně hluboká hypothyreóza může probíhat jen s minimem příznaků, typické známky mohou zcela chybět, a naopak subklinická hypothyreóza může být provázena nápadnými rysy. Na hypothyreózu je nezbytné myslet u každé osoby s ojedinělým příznakem. Existují situace či choroby, které jsou rizikové pro vznik hypothyreózy. Příkladem jsou i stavy po radioterapii v oblasti hlavy a krku (více v experimentální části práce). TSH screening se doporučuje paušálně provádět u dospělých nad 35 let, opakovat každých 5 let, zejména u osob s hypertenzí, karcinomem prsu, hypercholesterolemií [190].

#### *Psychické příznaky*

Typickými známkami jsou zpomalené myšlení, zapomínání, apatie, nesoustředěnost, anhedonie, ranní deprese a celková únava. Překvapivé je, že některé osoby s těžkou hypothyreózou nemají žádné známky psychického útlumu.

#### *Kardiovaskulární příznaky*

Palpitace uvádí mnoho nemocných, někdy je u nich zjištěn prolaps mitrální chlopně. Vyšetření ultrazvukem dále dokumentuje sníženou ejekční frakci a poruchu diastolického plnění. Příznakem děletrvajících chorob jsou potom bradykardie, perikardiální výpotek a stenokardie. Charakteristické mohou být změny na EKG, které jsou při správně vedené terapii zcela reverzibilní. Doprovodná hypercholesterolemie vede poměrně rychle ke změnám na cévách. Ke zhoršení kardiovaskulárních obtíží někdy přispívá lehčí anémie. Život ohrožující komplikací může být hyponatrémie jako součást metabolického rozvratu při myxedémovém kómatu.

#### *Příznaky GIT*

Chronická obstipace přichází až s těžším myxedémem. Pokud pacient uvádí obstipaci, meteorismus či abdominální bolesti, je vhodné vyloučit konkomitantní celiakii v rámci polyendokrinopatie. U hypothyreózy byla také popsána snížená sekrece gastrinu a jeho snížená stimulace po argininu a achlorhydrie [291].



### ***Svalové příznaky***

Svaly mohou být ztuhlé, prosáklé, při palpaci jsou bolestivé. Myalgie jsou akcentované při současné léčbě hypolipidemiky. Otok hlasivkových vazů se projevuje zhrubnutím hlasu a chrapotem.

### ***Kožní příznaky***

Pokožka může být suchá, na rukou může připomínat kůži krokodýla. Bývá zhoršená kvalita kožních adnex, v extrémních případech úplně chybí ochlupení trupu, axilární i pubické. Vzácností není ani výskyt vitiliga.

### ***Příznaky sníženého metabolismu***

Typickou známkou je zimomřivost, která bývá mylně přičítána stáří nebo maskována vegetativními příznaky v období klimakteria. Často tento příznak zcela chybí.

### ***Příznaky na reprodukčních orgánech***

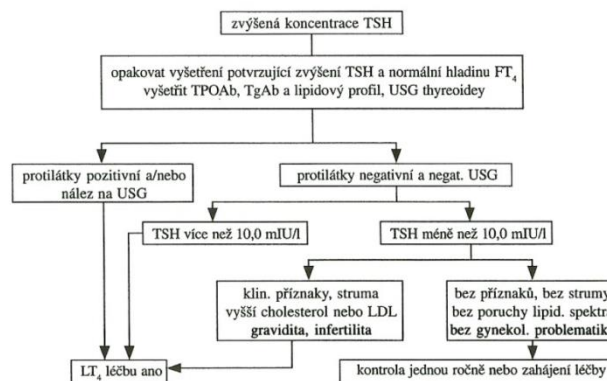
Průvodním znakem u žen je sterilita, oligomenorea, metroragie a galaktorea. Při léčbě dochází k úpravě během několika měsíců.

Větší výskyt subklinické hypothyreózy je spojován s jinými patologickými stavy. Příkladem jsou autoimunitní choroby, především diabetes mellitus [362]. U osob s kardiovaskulárním onemocněním je záhyt subklinické hypothyreózy vyšší než v běžné populaci [227]. Studie zaměřená na ženy s infarktem myokardu v anamnéze odhalila subklinickou hypothyreózu u 21 % pacientek. Z výsledků vyplývá dvojnásobné relativní riziko vzniku akutního infarktu myokardu u osob se subklinickou hypothyreózou, při současné přítomnosti antithyreoidálních protilátek je toto riziko až trojnásobné [126]. Známostí je, že plně rozvinutá hypothyreóza je provázena hypercholesterolémií, která příznivě reaguje na substituční léčbu. Některé studie však zvýšené hladiny cholesterolu v krvi u pacientů se subklinickou hypothyreózou neodhalily [328]. Na druhou stranu u vybraného souboru osob s hypercholesterolémií bylo zjištěno 20 % osob se subklinickou nebo klinickou hypothyreózou a u těchto osob byl zvýšen nejen cholesterol, ale i hodnoty C-reaktivního proteinu (CRP) a triacylglycerolů (TAG) [188]. V jiném souboru nemocných léčených pro hyperlipoproteinémii mělo 23 % pacientů nediodagnostikovanou subklinickou hypothyreózu [200]. Vyšší aterogenní index a změnu lipidového spektra ve prospěch LDL prokázaly i jiné studie [188, 226]. Některé práce dokumentují souvislost subklinické hypothyreózy s vyšší hladinou homocysteinu v krvi, který prokazatelně akceleruje rozvoj aterosklerózy [163, 293]. Na změněné koagulační parametry a zvýšený cévní odpor u osob se subklinickou hypothyreózou ve své práci upozorňuje Biondi a kol. [27]. Klinická i subklinická hypothyreóza může být příčinou zvýšeného krevního tlaku. Hypertenze je pravděpodobně způsobena zvýšenou systémovou vaskulární rezistencí [36, 96]. Echokardiograficky lze i u osob se subklinickou hypothyreózou dokumentovat drobné změny srdeční výkonnosti. Jedná se především o sníženou diastolickou funkci levé komory. Při vhodné substituční terapii jsou tyto stavy zcela reverzibilní [384]. Při cíleném vyšetření nemocných s depresi je subklinická hypothyreóza častým vedlejším nálezem [344].

## 4.10.2 Terapie hypothyreózy

Substituční terapie je nevyhnutelná u všech klinických forem hypothyreózy. Základem léčby je levothyroxin (LT<sub>4</sub>). Kombinované preparáty obsahující T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub> jsou indikovány tam, kde je nutná rychlá korekce nebo dostatečná suprese u osob se zdravým kardiovaskulárním aparátem, tj. především u mladých jedinců. K dlouhodobé substituci se tato léčiva nehodí, neúčinná jsou též u gravidních pacientek, neboť T<sub>3</sub> prostupuje placentou pouze minimálně. Přístup k substituci zůstává po dlouhou dobu neměnný. Začíná se nižší substituční dávkou, která se po 3-6 týdnech zvyšuje, u jinak zdravých osob rychleji, u starších polymorbidních nemocných zvolna. Výsledná plná substituční denní dávka bývá 100 µg. Při současné hypercholesterolemii se hypolipidemika doporučují podávat až po dosažení euthyreózy. Substituce levothyroxinem je léčbou doživotní, hladiny hormonů se po stabilizaci stavu monitorují 1x za 6-12 měsíců [199].

O subklinických stavech se v thyreologii diskutuje již několik desítek let a lékařská veřejnost dosud nedošla k jednoznačnému závěru, zda pacienty se subklinickou hypothyreózou léčit nebo pouze sledovat. Reakce organismu na hormonální změny a adaptační schopnost jedince je individuálně závislá na genetických faktorech, věku a mnoha jiných dosud neobjasněných vivech. Navíc jsou fyziologické variace koncentrací hormonů štítné žlázy poměrně široké. Z tohoto důvodu je nutné zvažovat individuální léčebný postup pro jednoho každého pacienta na základě podrobné analýzy mnoha kritérií, včetně biologického stavu jedince. Rutinní přístup k terapii subklinické hypothyreózy rozhodně nemá v moderní medicíně místo. Podle metaanalýzy publikované v časopise JAMA [328] musí být terapie zahájena u gravidních žen, má být aplikována u žen starších 50 let a u osob s vysokým rizikem thyreoidální dysfunkce, tj. v případě některých komorbidit (viz výše). Svůj význam má vyšetření protilátek TPOAb a TgAb. Při jejich pozitivním titru je u euthyroidních pacientů zvýšené riziko vzniku subklinické i klinické hypothyreózy [325]. Diagnostický algoritmus podle Límanové je znázorněn na obrázku (obr. 6). Zvláštní přístup vyžadují subklinické stavy thyreoidálních dysfunkcí u seniorů. Vyskytují se názory, že u populace nad 85 let je substituční terapie dokonce nevýhodná z hlediska vyšší úmrtnosti na kardiovaskulární choroby následkem léčby [66, 124].



**Obrázek 6.** Doporučený diagnostický postup při podezření na subklinickou hypofunkci. (Převzato: Límanová, 2006)

## 5 Experimentální část

### 5.1 Úvod

Zhoubné nádory hlavy a krku jsou celosvětově šestým nejčastějším maligním onemocněním [255]. Radioterapie je léčebná modalita s kurativním potenciálem, využívá se buď samostatně nebo v kombinaci s chirurgickou léčbou a/nebo chemoterapií. V závislosti na lokalizaci primárního tumoru a krčních metastáz je často do ozařovaného pole zahrnuta i štítná žláza nebo její část [97]. Navzdory tomu, že jsou buňky štítné žlázy u dospělého jedince relativně radiorezistentní díky nízkému proliferativnímu indexu [127], hypofunkce štítné žlázy je přes 50 let známou komplikací radiační léčby nádorů hlavy a krku [87]. V literatuře se udává široké rozmezí incidence hypofunkce po radioterapii jako samostatné léčebné modalitě 3-47 % [7, 14, 119, 187, 197, 232, 251, 310, 337, 340, 348, 364, 368, 390]. Kombinace radioterapie s resekčním výkonem na krku zahrnujícím laryngektomii s hemithyreoidectomií značně zvyšuje riziko vzniku hypothyreózy [72, 108, 197, 241, 254, 266, 294, 310, 337, 340, 348, 364, 368]. Naproti tomu zahrnutí chemoterapie do léčebného protokolu pravděpodobně nemá na vznik hypothyreózy zásadní vliv [7, 108, 197, 232, 266, 310, 337, 348, 368].

Cílem této retrospektivní studie bylo:

1. Zjistit četnost hypothyreózy v souboru pacientů, u kterých byla radioterapie součástí léčebného protokolu;
2. Porovnat hladiny hormonů štítné žlázy u těchto pacientů s hladinami hormonů v kontrolní skupině pacientů, kteří byli léčeni pouze chirurgicky;
3. Pokusit se odhadnout vývoj hypothyreózy v čase.

## 5.2 Materiál a metodika

### 5.2.1 Materiál

Z celkového počtu 83 pacientů s nethyroidním maligním nádorem hlavy a krku byly vytvořeny 2 skupiny – skupiny RT a K. Skupina RT čítala 43 pacientů v pokročilých stádiích (stádia III a IV) nebo s recidivou onemocnění, kteří byli léčeni radioterapií buď samostatně, nebo v kombinaci s chirurgickým výkonem. U 5 pacientů z RT skupiny byla součástí léčebného protokolu chemoterapie (u 3 neoadjuvantně, u 2 konkomitantně). Skupina K (kontrolní) obsahovala 40 pacientů v méně pokročilých stádiích, kteří byli léčeni pouze chirurgicky. Histologicky se u všech pacientů jednalo o dlaždicobuněčný nebo nediferencovaný karcinom. Lokalizace primárního tumoru jsou uvedeny v tabulce 4.

*Tabulka 4. Přehled lokalizací primárního tumoru v obou skupinách pacientů.*

Lokalizace primárního tumoru	Skupina RT <i>n</i> = 43	Skupina K <i>n</i> = 40
Ret (pokročilá stádia)	2	8
Kůže (pokročilá stádia)	1	-
Sliznice tváře	-	4
Dolní alveolární výběžek	5	11
Horní alveolární výběžek	4	9
Tvrdé patro	1	5
Měkké patro	2	-
Maxilární sinus	5	-
Přední 2/3 jazyka	10	3
Zadní 1/3 jazyka	5	-
Spodina dutiny ústní	8	-
<b>Celkem</b>	<b>43</b>	<b>40</b>

Průměrný věk v RT skupině byl 64,37 roku se směrodatnou odchylkou 11,82; 23 pacientů bylo mužského pohlaví a 20 ženského. Průměrný věk v kontrolní skupině byl 65,9 se směrodatnou odchylkou 11,35; mužů bylo 24 a žen 16. Všichni probandi byli jedinci bílé rasy.

Průměrná celková dávka radiace byla 65,7 Gy (od 54 Gy do 78 Gy). Zdrojem záření byl lineární urychlovač nebo kobaltový zářič. Ve všech případech bylo zvoleno konvenční schéma frakcionace o denní dávce 2 Gy aplikované 5krát v týdnu na oblast primárního tumoru a regiolyfatický systém krku.

Případná chirurgická léčba spočívala v resekci primárního tumoru s adekvátní radikalitou doplněné o krční disekci, pokud byla indikována. Rozsah eventuální krční disekce se řídil stagingem onemocnění, ve vztahu ke štítné žláze se vždy jednalo o šetřící výkon.

## 5.2.2 Metodika

Funkce štítné žlázy byly zhodnoceny prostřednictvím hladin thyreostimulačního hormonu (TSH), volného thyroxinu (FT4) and volného trijodthyroninu (FT3). Střední doba pozorování počítaná od posledního dne radioterapie byla 34 měsíců. Podle doby pozorování (follow-up) byli pacienti rozděleny na dvě podskupiny – follow-up do 60 měsíců od radioterapie (0-60) a follow-up nad 60 měsíců od radioterapie (60+).

Hladina hormonu TSH se stanovovala sendvičovou radioimunoanalytickou metodou (IRMA), hladiny FT3 a FT4 kompetitivní metodou (RIA). Referenční hodnoty v laboratoři FN Plzeň byly následující: TSH 0,3-4 mIU/l, FT4 11,5-23,0 pmol/l, FT3 2,5-5,8 pmol/l. Podle výsledků byli pacienti kategorizováni jako euthyreoidní (normální hodnota TSH, normální hodnoty FT4 a FT3), se subklinickou hypothyreózou (zvýšená hodnota TSH, normální hodnota FT4 a FT3) a s klinickou hypothyreózou (zvýšená hodnota TSH a snížená hodnoty FT4 a/nebo FT3). Mimořádná pozornost byla zaměřena na ty pacienty, kteří měli normální hodnotu TSH a sníženou FT3 (tzv. syndrom nízkého T3; euthyroid sick syndrome). Žádný z probandů neměl v anamnéze poruchu štítné žlázy v minulosti.

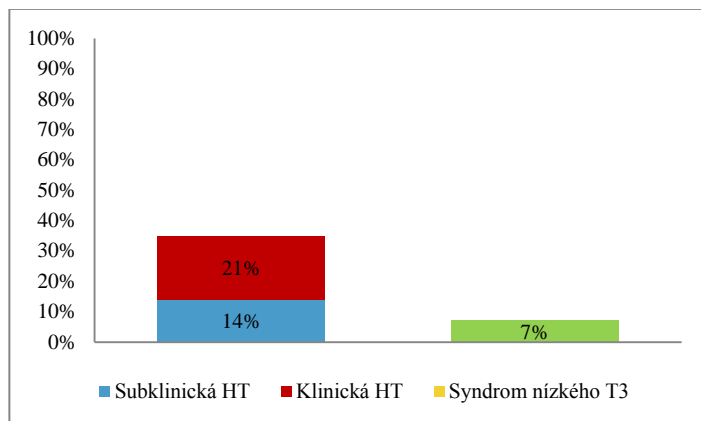
## 5.2.3 Statistické zpracování

Naměřená data byla analyzována pomocí programů Microsoft Excel 12.0 a Statistica 9.0. Metodami deskriptivní statistiky byly vypočteny aritmetický průměr, medián, směrodatná odchylka, minimální a maximální neodlehle hodnoty. Jelikož Kolmogorovův-Smirnovův test prokázal, že ne všechny výběry pocházejí z normálního rozdělení, k testování hypotéz byl zvolen Mann-Whitney U-test. Test normality i Mann-Whitney U-test byly vypočítány pro oboustrannou alternativu. Ke zhodnocení vztahu mezi hladinami hormonů a dobou pozorování (follow-up) byly porovnány lineární a exponenciální modely regresní analýzy. Statistická signifikance regresních modelů byla ověřena modifikovaným ANOVA testem. Hladina významnosti všech testů byla určena hodnotou  $\alpha = 0,05$ .

Výsledky byly zpracovány formou tabulek a grafů. Četnost poruch štítné žlázy po radioterapii je znázorněna pomocí sloupcového grafu, porovnávání hladin hormonů mezi skupinami pomocí krabicových diagramů, které vyjadřují medián, dolní a horní kvartil a minimální a maximální neodlehle hodnoty na chybových úsečkách. Regresní analýza je graficky modelována exponenciálními spojnicemi trendu.

### 5.3 Výsledky

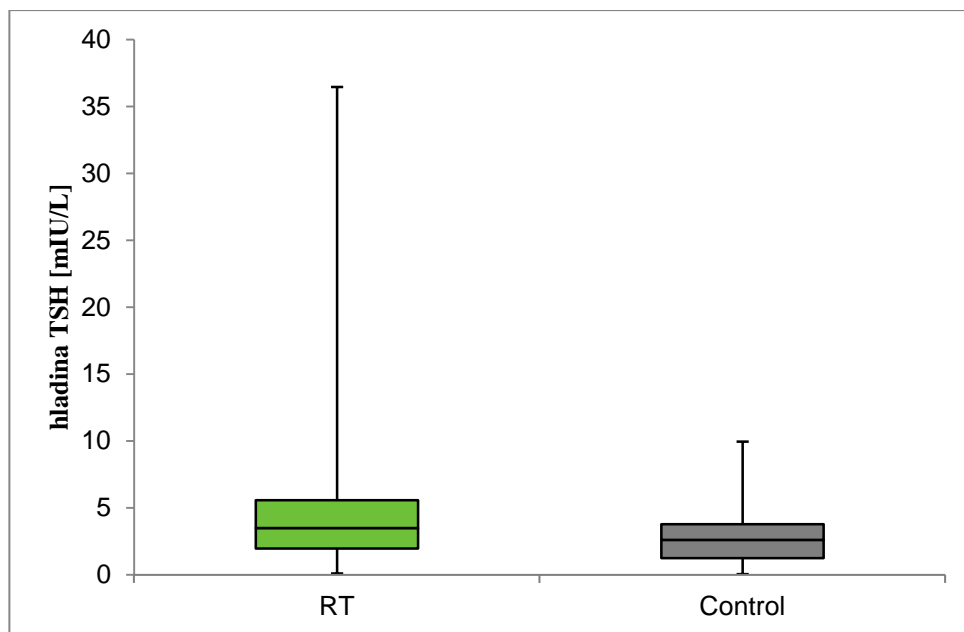
Hypofunkce štítné žlázy byla naměřena u 15 pacientů z RT skupiny (35 %). Z toho 6 pacientů mělo subklinickou hypothyreózu (40 %) a 9 klinickou hypothyreózu (60 %). 3 pacienti z RT skupiny měly sníženou hladinu FT3 při normální hladině TSH (syndrom nízkého T3). Percentuální zastoupení poruch štítné žlázy v RT skupině znázorňuje sloupcový diagram (obr. 7).



**Obrázek 7.** Sloupcový graf znázorňuje percentuální zastoupení poruch štítné žlázy ve skupině RT.

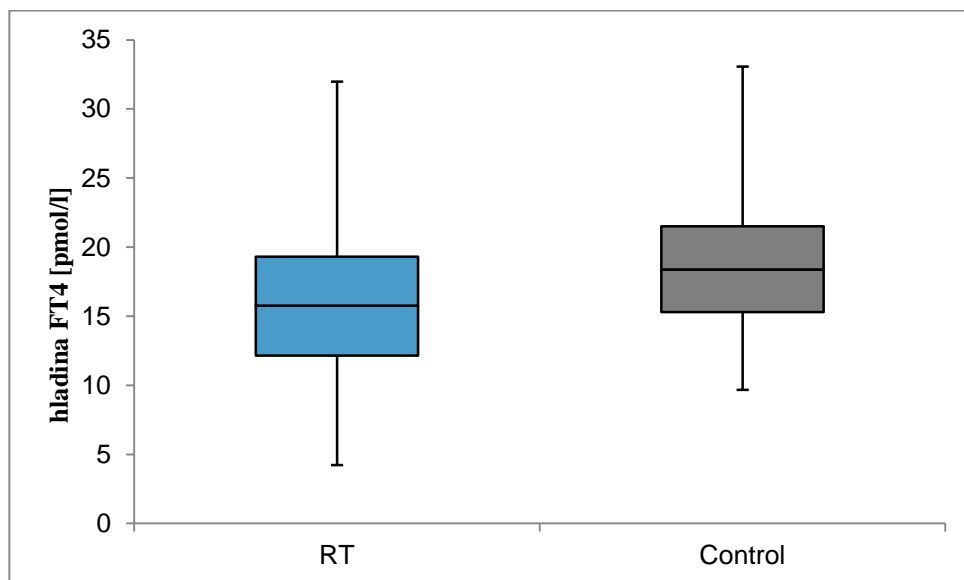
V kontrolní skupině mělo sníženou funkci štítné žlázy 6 pacientů (15 %) pacientů, 2 z nich spadali do kategorie subklinické hypothyreózy a 4 měli klinickou hypothyreózu. Žádný z probandů v kontrolní skupině netrpěl syndromem nízkého T3.

Ve stanovovaných hladinách jednotlivých hormonů nebyly nalezeny signifikantní rozdíly mezi pohlavími. I podle věku byl soubor genderově homogenní. Hladiny hormonů TSH byly ve skupině RT signifikantně odlišné od hladin hormonů ve skupině K. Totéž platilo i pro hladiny hormonů FT4. Mezi hladinami hormonů FT3 nebyly při porovnání skupin RT a K nalezeny signifikantní rozdíly (obr. 8, 9, 10).



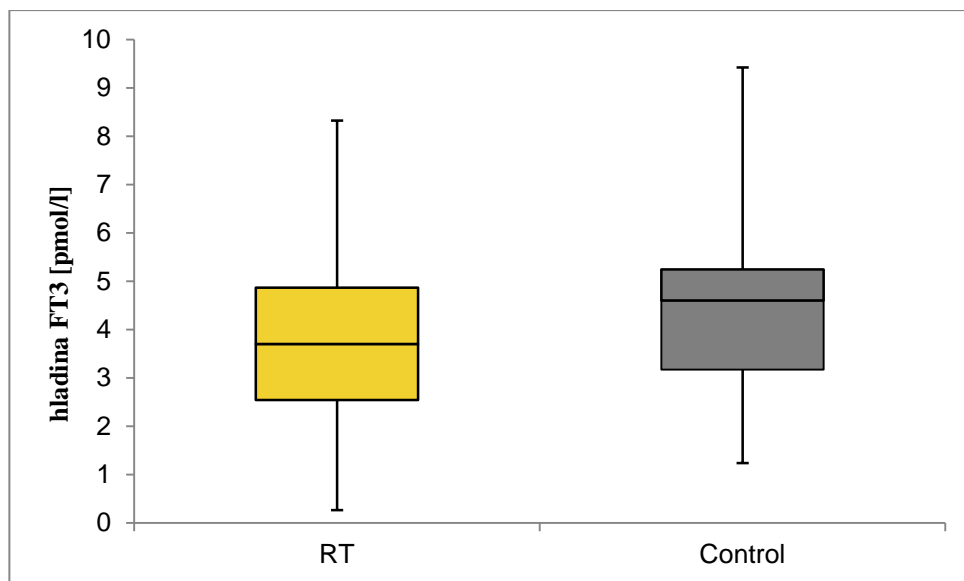
**Obrázek 8.** Srovnání hladin hormonu TSH mezi skupinou RT a skupinou K. Uvnitř krabicových grafů je zobrazen medián, dolní a horní ohraničení diagramu představují 1. a 3. kvartil, chybové úsečky představují minimální a maximální neodlehle hodnoty.

Rozdíl v hladinách hormonu TSH mezi skupinami RT a K byl statisticky signifikantní na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .



**Obrázek 9.** Srovnání hladin hormonu FT4 mezi skupinou RT a skupinou K. Uvnitř krabicových grafů je zobrazen medián, dolní a horní ohraničení diagramu představují 1. a 3. kvartil, chybové úsečky představují minimální a maximální neodlehle hodnoty.

Rozdíl v hladinách hormonu FT4 mezi skupinami RT a K byl statisticky signifikantní na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .



**Obrázek 10.** Srovnání hladin hormonu FT3 mezi skupinou RT a skupinou K. Uvnitř krabicových grafů je zobrazen medián, dolní a horní ohraničení diagramu představují 1. a 3. kvartil, chybové úsečky představují minimální a maximální neodlehle hodnoty.

*Rozdíl v hladinách hormonu FT3 mezi skupinami RT a K nebyl statisticky signifikantní na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .*

Pokud jsme rozdělili skupinu RT podle času od radioterapie (doba pozorování; follow-up) na dvě podskupiny, v podskupině 0-60, kde byla doba pozorování do 60 měsíců od radioterapie, nebyly v porovnání se skupinou K nalezeny statisticky významné rozdíly v hladinách žádného ze stanovovaných hormonů. Naopak při porovnávání podskupiny, kde byla doba pozorování více než 60 měsíců (skupina 60+) s kontrolní skupinou byly signifikantní rozdíly v hladinách všech hormonů a zároveň byly p-hodnoty nižší, než když se porovnávala celá skupina RT vcelku. Věk pacientů se nelišil v žádné z porovnávaných skupin a podskupin. Srovnání jednotlivých skupin a podskupin je uvedeno v přehledné tabulce (tab. 4).



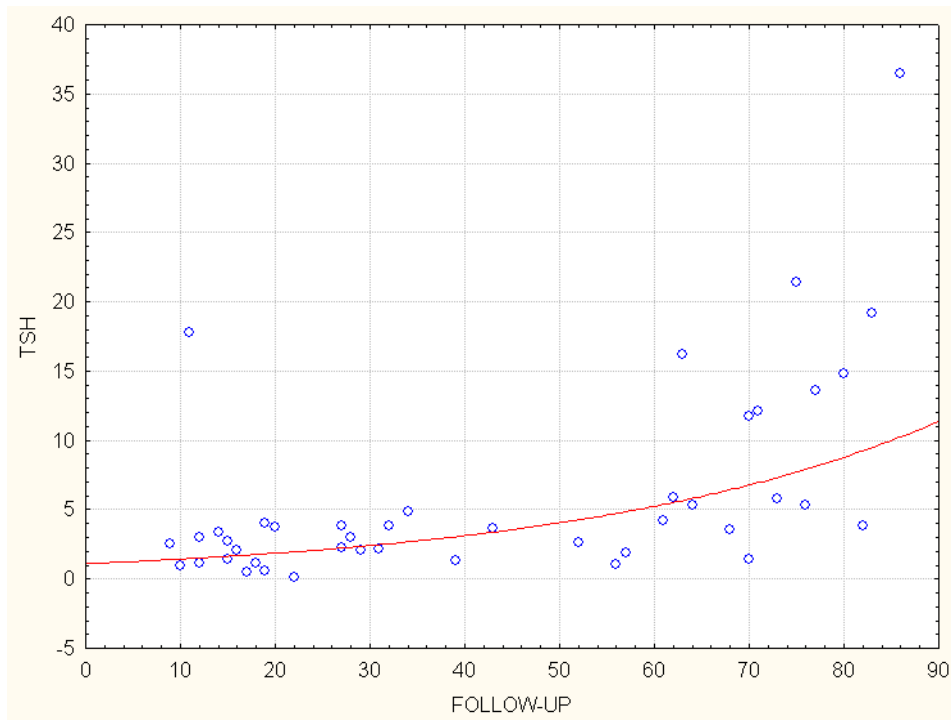
**Tabulka 5. Srovnání hladin hormonů TSH, FT4 a FT3 a věku v jednotlivých skupinách a podskupinách.**

M vs. Ž	M (n = 47)		F (n = 36)		Mann-Whitney U-test		
	Mean	SD	Mean	SD	U	Z	p
TSH [mIU/l]	4,50	6,26	4,31	4,82	805,0	-0,377	0,706
FT4 [pmol/l]	16,70	5,00	17,73	5,90	745,0	-0,928	0,353
FT3 [pmol/l]	4,02	1,53	4,18	1,91	785,0	-0,561	0,575
VĚK [roky]	65,23	10,83	64,94	12,59	830,5	0,142	0,887
RT vs. K	RT (n = 43)		K (n = 40)		Mann-Whitney U-test		
	Mean	SD	Mean	SD	U	Z	p
TSH [mIU/l]	6,01	7,27	2,71	2,09	625,0	2,142	0,032*
FT4 [pmol/l]	16,03	5,68	18,35	4,86	641,0	-1,996	0,046*
FT3 [pmol/l]	3,75	1,73	4,45	1,61	662,0	-1,804	0,071
VĚK [roky]	64,37	11,82	65,90	11,35	814,0	-0,419	0,675
RT 0-60 vs. K	RT 0-60 (n = 27)		K (n = 40)		Mann-Whitney U-test		
	Mean	SD	Mean	SD	U	Z	p
TSH [mIU/l]	2,87	3,23	2,71	2,09	524,0	-0,205	0,838
FT4 [pmol/l]	18,50	4,75	18,35	4,86	537,0	0,038	0,969
FT3 [pmol/l]	4,43	1,56	4,45	1,61	537,0	-0,038	0,969
VĚK [roky]	64,37	11,61	65,90	11,35	502,0	-0,486	0,627
RT 60+ vs. K	RT 60+ (n = 16)		K (n = 40)		Mann-Whitney U-test		
	Mean	SD	Mean	SD	U	Z	p
TSH [mIU/l]	11,30	9,08	2,71	2,09	69,0	4,552	0,000***
FT4 [pmol/l]	11,87	4,67	18,35	4,86	98,0	-4,026	0,000***
FT3 [pmol/l]	2,60	1,36	4,45	1,61	125,0	-3,537	0,000***
VĚK [roky]	64,38	12,55	65,90	11,35	312,0	-0,145	0,885
RT 0-60 vs. RT 60+	RT 0-60 (n = 27)		RT 60+ (n = 16)		Mann-Whitney U-test		
	Mean	SD	Mean	SD	U	Z	p
TSH [mIU/l]	2,87	3,23	11,30	9,08	41,5	4,384	0,000***
FT4 [pmol/l]	18,50	4,75	11,87	4,67	53,5	-4,083	0,000***
FT3 [pmol/l]	4,43	1,56	2,60	1,36	79,0	-3,442	0,001**
VĚK [roky]	64,37	11,61	64,38	12,55	213,0	-0,075	0,940

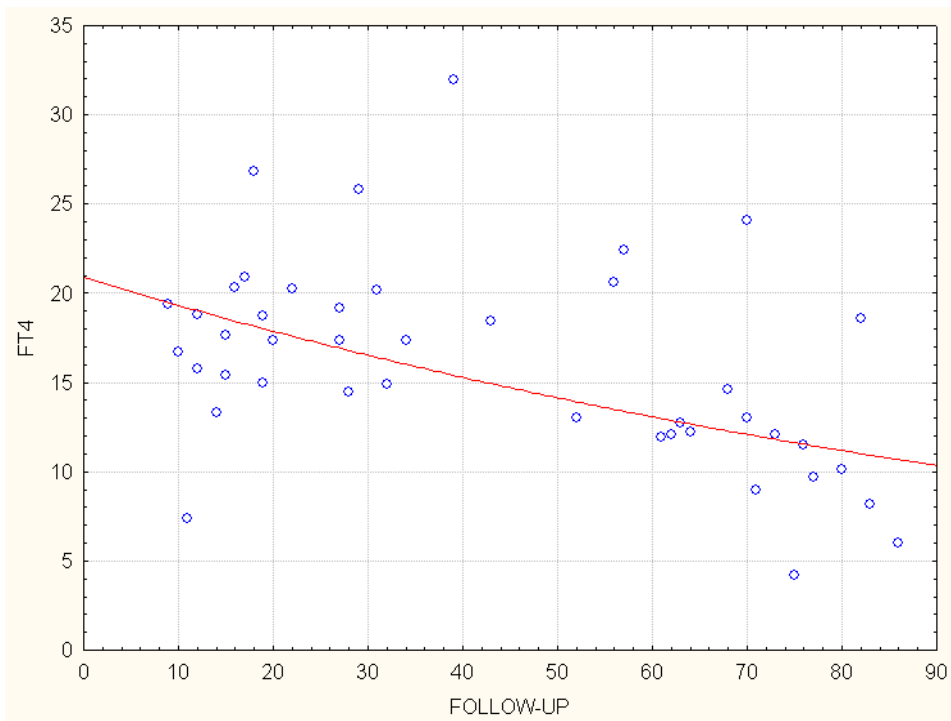
Vysvětlivky: TSH = tyreostimulační hormon; FT4 = volný thyroxin; FT3 = volný trijodthyronin; M = muži; Ž = ženy; RT = skupina po radioterapii; K = kontrolní skupina; RT 0-60 = podskupina s dobou pozorování 0-60 měsíců po radioterapii, RT 60+ = podskupina s dobou pozorování delší než 60 měsíců po radioterapii; Mean = průměrná hodnota; SD = směrodatná odchylka; U = testová statistika; Z = Z skóre; p = p-hodnota.

p\*; p\*\*; p\*\*\* – test je statisticky signifikantní na hladinách významnosti menších než 0,05; 0,01; 0,001.

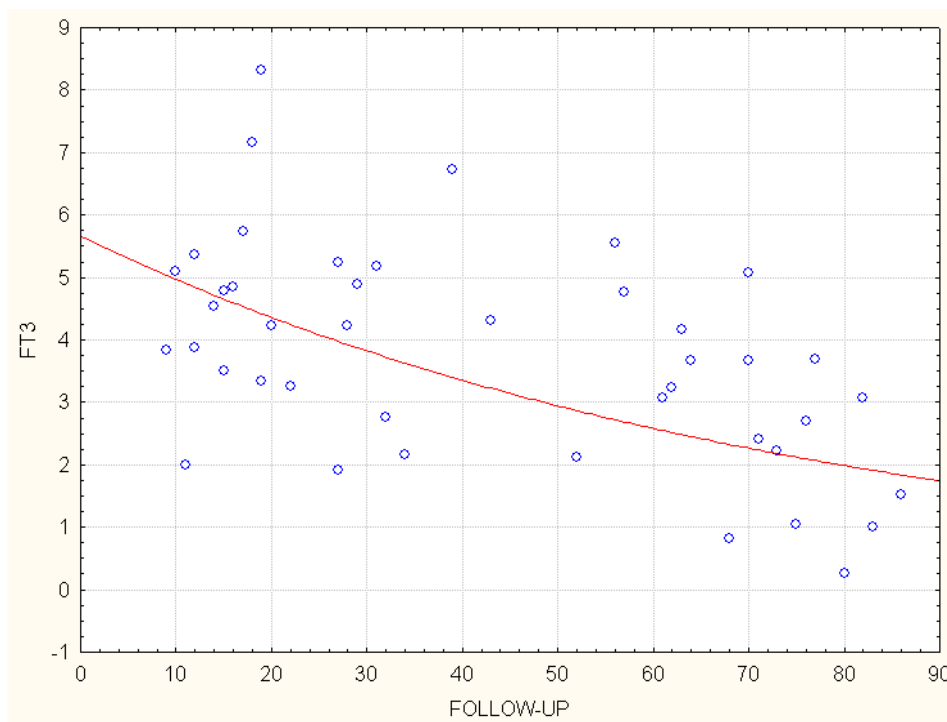
Lineární i exponenciální modely regresní analýzy odhalily slabou pozitivní korelaci mezi hladinou hormonu TSH a dobou pozorování (follow-up) a slabou negativní korelaci mezi hladinami hormonů FT4 a FT3 a dobou pozorování. Exponenciální model byl spolehlivější z důvodů vyšších korelačních koeficientů a p-hodnot (obr. 11, 12, 13).



**Obrázek 11.** Exponenciální regresní model závislosti hladiny hormonu TSH na době pozorování (follow-up).  
 $y = 1,114 * \exp(0,026 * x)$ ;  $r = 0,59$ ;  $p = 0,000***$



**Obrázek 12.** Exponenciální regresní model závislosti hladiny hormonu FT4 na době pozorování (follow-up).  
 $y = 20,893 * \exp(-0,008 * x)$ ;  $r = -0,506$ ;  $p = 0,001**$



**Obrázek 12.** Exponenciální regresní model závislosti hladiny hormonu FT3 na době pozorování (follow-up).  
 $y = 5.661 * \exp(-0.013 * x)$ ;  $r = -0.529$ ;  $p = 0.000***$

## 5.4 Diskuze

Celková incidence hypothyreózy po radioterapii hlavy a krku 35 % zjištěná v naší studii spadá do širokého rozmezí 3-47 % udávaného v nejrůznějších literárních pramenech [7, 14, 108, 187, 197, 232, 251, 310, 337, 340, 348, 364, 368, 390]. Tento značný rozptyl může být způsoben mnohými faktory, například heterogenitou v radiačních technikách, celkovou radiační dávkou, různými objemy ozářené tkáně nebo různě dlouhou dobou pozorování po radioterapii. Námi naměřená častější klinická hypothyreóza je ve shodě se studií Turnerové a kol. [348], avšak v kontradikci k jiným studiím, které uvádějí častější výskyt subklinické hypothyreózy [197, 266, 340]. V kontrolní skupině bylo hypothyreózou postiženo 15 % pacientů. Podobná incidence je podle některých prací běžná i pro normální starší populaci [24, 210].

Zdá se být logické, že pacienti, u nichž byla součástí chirurgického výkonu také parciální hemithyroidektomie, mají větší riziko vzniku hypofunkce štítné žlázy [72, 108, 197, 241, 254, 266, 294, 310, 337, 340, 348, 364, 368]. Proto byli takoví pacienti z naší studie vyřazeni. Zároveň někteří autoři tvrdí, že při samostatné radiační terapii bez využití ostatních modalit je hypothyreóza velmi vzácnou nebo dokonce neexistující komplikací [72, 243, 294]. Samotný fakt, že všechny provedené chirurgické výkony u pacientů v naší studii byly vzhledem ke štítné žláze šetřící, tuto hypotézu vyvrací. Navíc jsme zjistili signifikantní rozdíly v hladinách hormonů TSH a FT4 mezi skupinou ozářených pacientů (RT skupina) a skupinou pacientů léčených pouze chirurgicky (kontrolní skupina K). K obdobným závěrům došli Chougule a Kochar [153], kteří srovnávali hladiny hormonů u pacientů po radioterapii a zdravou populaci. V jejich studii byly plazmatické hladiny T4 a T3 6 měsíců po radioterapii signifikantně sníženy, hladiny TSH se však v obou skupinách nelišily.

Turnerová a kol. [348] odhaduje, že až u 40 % ozářených se do 5 let může vyvinout hypofunkce. Podle Tella a kol. [340] je 3 roky po ozáření riziko vzniku klinické hypothyreózy 15 % a riziko vzniku subklinické hypothyreózy téměř 40 %. Mercado a kol. [232] Kaplan-Meierovou metodou zjistili, že incidence 5 let a 8 let po radioterapii je 48 %, respektive 67 %, přičemž medián vzniku hypothyreózy byl 1,4 roku. Průměrná doba detekce hypofunkce po ukončení radioterapie byla dle Alkana a kol. [10] 6 měsíců. Koc a Capoglu [181] vypočítali medián vývoje klinické hypothyreózy 15 měsíců a medián vývoje subklinické hypothyreózy 3 měsíce. Na rozdíl od Turnerové a kol. [348] a Alteriové a kol. [11] jsme prokázali korelaci mezi stupněm hypothyreózy a dobou od ozáření. Naše výsledky naznačují, že hypofunkce štítné žlázy je spíše pozdním nežádoucím účinkem po radioterapii hlavy a krku. Vysokému riziku jejího vzniku podléhají zejména pacienti 5 a více let po ukončení radiační léčby. Čím delší byla doba pozorování, tím rozvinutější byla porucha. S přibývajícím časem tedy můžeme očekávat vyšší pravděpodobnost vzniku hypothyreózy a zároveň tedy může subklinická hypothyreóza progredovat do klinicky manifestní formy. Nicméně přesnou dynamiku rozvoje hypothyroidismu náš experiment neobjasňuje, neboť jsme prováděli pouze jediný test v přesně definovaném čase od radiace. Z regresních modelů můžeme pouze odhadovat obecný vzorec vzniku a vývoje poruchy. Přiznáváme také, že někteří pacienti mohli mít poruchu funkce štítné žlázy již před zahájením terapie. Jelikož se jednalo o retrospektivní studii, testy před zahájením terapie nebyly k dispozici, vycházeli jsme pouze z anamnestických údajů. Současně je rovněž možný fenomén spontánního zotavení z přechodného zvýšení hladiny TSH, jak jej popsali někteří výzkumníci [114, 128]. K určení přesné dynamiky procesu budou nepochybně nutné další studie s průběžným monitorováním hladin hormonů.

Z dalších v literatuře citovaných faktorů přispívajících ke vzniku hypothyreózy je na místě zmínit celkovou dávku radiace, zahrnutí chemoterapie do protokolu léčby, věk a pohlaví pacientů, lokalizaci

primárního tumoru, staging nebo grading. Mnoho prací se snažilo nalézt vztah mezi dávkou záření a incidencí hypothyreózy, ale výsledky jsou kontroverzní. Například August a kol. [14] korelaci zjistili, zatímco Tell a kol. [340] a Alteriová a kol. [11] nikoliv. Křivky závislosti vzniku hypothyreózy na dávce navržené různými autory jsou nehomogenních tvarů [64, 128, 368]. Navzdory usilí se dosud nepodařilo definovat ani přesnou toleranční dávku [73, 84, 159]. U dětských pacientů se jako výhodný z hlediska prevence hypothyreózy ukázal hyperfrakcionační režim radioterapie [275]. V naší retrospektivní studii nebyly u jednotlivých pacientů významné odchylky v celkových dávkách radiace a frakcionační schéma bylo vždy konvenční. Vztah mezi dávkou radiace a vznikem hypothyreózy jsme tak určit nemohli.

V roce 1980 byl poprvé zmíněn potenciální toxický vliv L-asparaginázy na štítnou žlázu [17]. V současné době se pro funkci štítné žlázy samostatná chemoterapie nepovažuje za nezávislý rizikový faktor. Efekt jejího přidání k radioterapii je však nejasný. Existuje všeobecně přijímaný koncept chemicky indukované radiosenzitizace, ale zda chemoterapie podaná v kombinaci skutečně negativně ovlivňuje thyroideální funkce, není dosud známo. Posner a kol. [266] se touto problematikou zabývali a nezjistili, že by přidání chemoterapie zvyšovalo incidenci hypothyreózy. Ke stejným závěrům došli v jiných studiích [310, 232, 368]. Obdobně Aich a kol. nepovažují efekt neadjuvantní a konkomitantní chemoterapie za signifikantní. Jistou výjimku tvoří studie Hancocka a kol. [128], kde při léčbě maligních lymfomů byla chemoterapie pro vznik hypothyreózy významným rizikovým faktorem. Z pouhých 5 pacientů v našem souboru, u kterých byla součástí léčby i chemoterapie, nelze učinit závěr.

Většina výsledků napovídá tomu, že věk pacientů nehraje při vzniku hypothyreózy roli [7, 11, 108, 232, 236, 266], což se potvrdilo i nám. Pouze Tell a kol. [340] tvrdí, že s vyšším věkem roste pravděpodobnost subklinické hypothyreózy, avšak ne klinické. Rizikovým faktorem je podle Alteriové a kol. [11] ženské pohlaví, naopak Aich a kol. [7], stejně jako my, genderové rozdíly u osob s postradiačním hypothyroidismem nenašli.

Vliv dalších faktorů, jako lokalizace primárního tumoru, stádia onemocnění, histopatologického gradingu, není detailně prozkoumán. Zatímco jedni autoři prohlašují, že vznik hypothyreózy není podmíněn lokalizací primárního nádoru ani stagingem [7, 232, 236], jiní odhalili nižší incidenci hypofunkce žlázy u T1 nebo N3 stádií a u nádorů primárně lokalizovaných v dutině ústní [63]. Zajímavostí je, že u všech 3 našich pacientů se syndromem nízkého T3, nastala později recidiva onemocnění. Syndrom nízkého T3 je považován za indikátor prognózy například u nemalobuněčného karcinomu plic [59] a obdobně by tomu mohlo být i u karcinomů hlavy a krku. V minulosti bylo též pozorováno, že radiační terapie více ovlivňuje funkce štítné žlázy u pacientů s málo diferencovanými karcinomy [153]. Náš soubor nebyl podle jednotlivých stupňů diferenciace testován.

Současně akceptovaný pohled na to, jakým způsobem hypothyroidismus po radioterapii vzniká, je založen na imunologicky zprostředkované reakci, která byla poprvé navržena v roce 1967 [83]. Četné pozitivní testy na antithyroidální protilátky u ozářených tuto teorii podporují [2, 73, 209, 310]. Histologické vyšetření štítné žlázy odhaluje poškození folikulárních buněk a poruchu vaskularizace již při dávkách 2,25 Gy [348]. Poněvadž jsou buňky štítné žlázy u dospělých jedinců díky nízkému obratu a vyššímu stupni diferenciace relativně radiorezistentní, bylo navrženo, že mohou podléhat radiací indukované apoptóze, k níž mají různí pacienti individuální pohotovost [340].

Typické příznaky hypothyreózy, například deprese, letargie, koží změny, zácpa atd., mohou být snadno přehlíženy, protože jsou často maskovány základním onemocněním a věkem nemocných.

Z tohoto důvodu se doporučuje rutinní průběžný monitoring thyroideálních funkcí [8, 197, 348]. Testování by mělo probíhat každých 6 měsíců doživotně [109, 232, 310, 350, 364]. Časným podchycením hypothyreózy a její adekvátní léčbou lze předcházet komplikacím, které mohou být méně závažné (např. komplikované hojení ran, ovlivnění metabolismu léčiv), ale také velmi závažné až fatální (např. srdeční selhání, vznik thyroideální malignity při dlouhodobé stimulaci TSH hormonem) [9, 189, 244, 254, 336, 374, 390]. Zlepšíme tím kvalitu života nemocných a přispějeme k lepšímu fyzickému a psychickému komfortu přežívajících. Není pochyb o tom, že při diagnostikování klinické hypothyreózy by měla být ihned nasazena substituční terapie levotyroxinem. O přístupu k pacientům se subklinickou hypothyreózou se neustále diskutuje. V minulosti se vytvořily dva názorové protiproudy, kdy první doporučoval zahájit terapii pouze v případech klinické hypothyreózy [340], zatímco druhý už při subklinických stavech z důvodu zabránění progresu do klinického onemocnění [129, 78, 197]. Vyskytly se i pokusy preventivně zabránit vzniku hypothyreózy podáváním tyroxinu během radioterapie nebo bezprostředně po ní [44, 246]. Jiné práce profylaktický efekt tyroxinu během radioterapie neprokázaly [19].

## 5.5 Závěr

U sledovaných pacientů s karcinomem hlavy a krku, kteří byli léčeni radioterapií buď samostatně, nebo v kombinaci s jinými modalitami, byl zjištěn poměrně vysoký výskyt hypofunkce štítné žlázy 35 %. Srovnání s kontrolní skupinou ukázalo, že radioterapie je významný prediktivní faktor pro vznik hypothyreózy. Byla zaznamenána korelace mezi stupněm poruchy štítné žlázy a dobou od ukončení radiační léčby. Hypothyroidismus se tak jeví spíše jako pozdní nežádoucí účinek radioterapie. Indikátorem prognózy pacientů s karcinomem hlavy a krku by mohla být hladina hormonu T3.

Vzhledem k frekvenci výskytu a potenciální morbiditě hypothyreózy doporučujeme u pacientů s karcinomem hlavy a krku léčených radioterapií doživotní sledování funkcí štítné žlázy. K definování přesného algoritmu diagnostiky a terapie hypothyreózy u ozářených pacientů budou zapotřebí další randomizované prospektivní studie. V popředí zájmu však i nadále zůstává zdokonalení principů radiační ochrany.

## 6 Seznam použité literatury

1. Adam, Z.; Vorlíček, J.; Vaníček, J. Diagnostické a léčebné postupy u maligních chorob. 2. aktualiz. a dopl. vyd. Praha: Grada, 2004, 684 s.
2. Adler, R. A.; Corrigan, D. F.; Wartofsky, L. Hypothyroidism after X irradiation to the neck: three case reports and a brief review of the literature. *Johns Hopkins Med J.* 1976;138(5):180-184.
3. Agarwal, P.; Upadhyay, R.; Agarwal, A. Radiotherapy complications and their possible management in the head and neck region. *Indian J Dent Res.* 2012;23(6):843.
4. Ahomadegbe, J. C.; Barrois, M.; Fogel, S.; Le Bihan, M. L.; Douc-Rasy, S.; Duvillard, P.; Armand, J. P.; Riou, G. High incidence of p53 alterations (mutation, deletion, overexpression) in head and neck primary tumors and metastases; absence of correlation with clinical outcome. Frequent protein overexpression in normal epithelium and in early non-invasive lesions. *Oncogene.* 1995;10(6):1217-1227.
5. Ah-See, K. W.; Cooke, T. G.; Pickford, I. R.; Soutar, D.; Balmain, A. An allelotype of squamous carcinoma of the head and neck using microsatellite markers. *Cancer Res.* 1994;54(7):1617-1621.
6. Ahuja, R. B.; Soutar, D. S.; Moule, B.; Bessent, R. G.; Gray, H. Comparative study of technetium-99m bone scans and orthopantomography in determining mandible invasion in intraoral squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 1990;12(3):237-243.
7. Aich, R. K.; Deb, A. R.; Pal, S.; Naha, B. L.; Ray, A. Iatrogenic hypothyroidism: A consequence of external beam radiotherapy to the head & neck malignancies. *J Cancer Res Ther.* 2005;1(3):142-6.
8. Aimoni, C.; Scanelli, G.; D'agostino, L.; Pastore, A. Thyroid function studies in patients with cancer of the larynx: preliminary evaluation. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2003;129(6):733-738.
9. Alexander, M. V.; Zajtchuck, J. T.; Henderson, R. L. Hypothyroidism and wound healing: occurrence after head and neck radiation and surgery. *Arch Otolaryngol.* 1982;108(5):289-291.
10. Alkan, S.; Baylancicek, S.; Ciftçic, M.; Sozen, E.; Dadaş, B. Thyroid dysfunction after combined therapy for laryngeal cancer: a prospective study. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;139(6):787-791.
11. Alterio, D.; Jereczek-Fossa, B. A.; Franchi, B.; D'Onofrio, A.; Piazzini, V.; Rondi, E.; Ciocca, M.; Gibelli, B.; Grosso, E.; Tradati, N.; Mariani, L.; Boboc, G. I.; Orecchia, R. Thyroid disorders in patients treated with radiotherapy for head-and-neck cancer: a retrospective analysis of seventy-three patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2007;67(1):144-150.
12. Ang, K. K.; Harris, J.; Wheeler, R.; Weber, R.; Rosenthal, D. I.; Nguyen-Tân, P. F.; Westra, W. H.; Chung, C. H.; Jordan, R. C.; Lu, C.; Kim, H.; Axelrod, R.; Silverman, C. C.; Redmond, K. P.; Gillison, M. L. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2010;363(1):24-35.
13. Arroyo, M.; Bagchi, S.; Raychaudhuri, P. Association of the human papillomavirus type 16 E7 protein with the S-phase-specific E2F-cyclin A complex. *Mol Cell Biol.* 1993;13(10):6537-6546.
14. August, M.; Wang, J.; Plante, D.; Wang, C. C. Complications associated with therapeutic neck radiation. *J Oral Maxillofac Surg.* 1996;54(12):1409-1415.
15. Axell, T.; Pindborg, J. J.; Smith, C. J.; van der Waal, I. Oral white lesions with special reference to precancerous and tobacco-related lesions: conclusions of an international symposium held in Uppsala, Sweden, May 18-21 1994. International Collaborative Group on Oral White Lesions. *J Oral Pathol Med.* 1996;25(2):49-54.
16. Badaracco, G.; Venuti, A.; Morello, R.; Muller, A.; Marcante, M. L. Human papillomavirus in head and neck carcinomas: prevalence, physical status and relationship with clinical/pathological parameters. *Anticancer Res.* 2000;20(2B):1301-1305.
17. Bajorunas, D. R. Disorders of endocrine function following cancer therapies. *Clin Endocrinol Metab.* 1980;9(2):405-430.
18. Balsara, B. R.; Borges, A. M.; Pradhan, S. A.; Rajpal, R. M.; Bhisey, A. N. Flow cytometric DNA analysis of squamous cell carcinomas of the oral cavity: correlation with clinical and histopathological features. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1994;30B(2):98-101.
19. Bantle, J. P.; Lee, C. K.; Levitt, S. H. Thyroxine administration during radiation therapy to the neck does not prevent subsequent thyroid dysfunction. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1985;11(11):1999-2002.



20. Barnard, G.; Kohen, F. Idiometric assay: noncompetitive immunoassay for small molecules typified by the measurement of estradiol in serum. *Clin Chem.* 1990;36(11):1945-1950.
21. Barnes, L.; Eveson, J. W.; Reichart, P.; Sidransky, D. (Eds.): World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours. IARC Press: Lyon 2005.
22. Bartkova, J.; Lukas, J.; Müller, H.; Strauss, M.; Gusterson, B.; Bartek, J. Abnormal patterns of D-type cyclin expression and G1 regulation in human head and neck cancer. *Cancer Res.* 1995;55(4):949-956.
23. Bednář, J. Současný stav laboratorní diagnostiky tyreopatií. *Analytický přehled. Ceska Slov Farm.* 1994;43(2):64-68.
24. Bembien, D. A.; Winn, P.; Hamm, R. M.; Morgan, L.; Davis, A.; Barton, E. Thyroid disease in the elderly. Part 1. Prevalence of undiagnosed hypothyroidism. *J Fam Pract.* 1994;38(6):577-582.
25. Bentel, G. C. Radiation Therapy Planning. 2nd Ed. New York: McGraw-Hill, 1996.
26. Bier, J.; Schlums, D.; Metelmann, H.; Howaldt, H. P.; Pitz, H. A comparison of radical and conservative neck dissection. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1993;22(2):102-107.
27. Biondi, B.; Palmieri, E.A.; Lombardi, G.; Fazio, S. Effects of subclinical thyroid dysfunction on the heart. *Ann Intern Med.* 2002;137(11):904-914.
28. Bjørge, T.; Hennig, E. M.; Skare, G. B.; Soreide, O.; Thoresen, S. O. Second primary cancers in patients with carcinoma in situ of the uterine cervix. The Norwegian experience 1970-1992. 1995;62(1):29-33.
29. Blahoš, J.; Zamrazil, V. Endokrinologie: interdisciplinární obor. 1. vyd. Editor Praha: Triton, 2006, 505 s.
30. Bland, R. Steroid hormone receptor expression and action in bone. *Clin Sci.* 2000;98(2):217-240.
31. Blot, W. J.; McLaughlin, J. K.; Winn, D. M.; Austin, D. F.; Greenberg, R. S.; Preston-Martin, S.; Bernstein, L.; Schoenberg, J. B.; Stemhagen, A.; Fraumeni, J. F. Jr. Smoking and drinking in relation to oral and pharyngeal cancer. *Cancer Res.* 1988;48(11):3282-3287.
32. Bonner, J. A.; Harari, P. M.; Giralt, J.; Cohen, R. B.; Jones, C. U.; Sur, R. K.; Raben, D.; Baselga, J.; Spencer, S. A.; Zhu, J.; Youssoufian, H.; Rowinsky, E. K.; Ang, K. K. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):21-28.
33. Booth, P. W.; Schendel S. A.; Hausamen, J-E. Maxillofacial surgery. Edinburgh New York: Churchill Livingstone, 1999.
34. Bosch, F. X.; Lorincz, A.; Muñoz, N.; Meijer, C. J.; Shah, K. V. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55(4):244-265.
35. Bosch, F. X.; de Sanjose, S. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;(31):3-13.
36. Botella-Carretero, J. I.; Gómez-Bueno, M.; Barrios, V.; Caballero, C.; García-Robles, R.; Sancho, J.; Escobar-Morreale, H. F. Chronic thyrotropin-suppressive therapy with levothyroxine and short-term overt hypothyroidism after thyroxine withdrawal are associated with undesirable cardiovascular effects in patients with differentiated thyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer.* 2004;11(2):345-356.
37. Bouda, M.; Gorgoulis, V. G.; Kastrinakis, N. G.; Giannoudis, A.; Tsoli, E.; Danassi-Afentaki, D.; Foukas, P.; Kyroudi, A.; Laskaris, G.; Herrington, C. S.; Kittas, C. "High risk" HPV types are frequently detected in potentially malignant and malignant oral lesions, but not in normal oral mucosa. *Mod Pathol.* 200;13(6):644-653.
38. Boulter, A.; Johnson, N. W.; Birnbaum, W.; Teo, C. G. Epstein-Barr virus (EBV) associated lesions of the head and neck. *Oral Dis.* 1996;2(2):117-124.
39. Bourhis, J.; Dendale, R.; Hill, C.; Bosq, J.; Janot, F.; Attal, P.; Fortin, A.; Marandas, P.; Schwaab, G.; Wibault, P.; Malaise, E. P.; Bobin, S.; Luboinski, B.; Eschwege, F.; Wilson, G. Potential doubling time and clinical outcome in head and neck squamous cell carcinoma treated with 70 GY in 7 weeks. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;35(3):471-476.
40. Boyer, S. N.; Wazer, D. E.; Band, V. E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. *Cancer Res.* 1996;56(20):4620-4624.
41. Boyle, J. O.; Hakim, J.; Koch, W.; van der Riet, P.; Hruban, R. H.; Roa, R. A.; Correo, R.; Eby, Y. J.; Ruppert, J. M.; Sidransky, D. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.* 1993;53(19):4477-4480.

42. Boyle, P; Levin, B. World cancer report 2008. Geneva: Distributed by WHO Press, 2008, 510 s.
43. Braams, J. W.; Pruim, J.; Freling, N. J.; Nikkels, P. G.; Roodenburg, J. L.; Boering, G.; Vaalburg, W.; Vermey, A. Detection of lymph node metastases of squamous-cell cancer of the head and neck with FDG-PET and MRI. *J Nucl Med.* 1995;36(2):211-216.
44. Breda, M.; Martino, F.; Pastore, G.; Troncone, L.; Wuttge, A. Observations of the thyroid function after treatment of the laryngeal carcinoma with <sup>60</sup>Co. *Strahlentherapie.* 1982;158(8):480-483.
45. Brennan, J. A.; Mao, L.; Hruban, R. H.; Boyle, J. O.; Eby, Y. J.; Koch, W. M.; Goodman, S. N.; Sidransky, D. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med.* 1995;332(7):429-435.
46. Brennan, J. A.; Boyle, J. O.; Koch, W. M.; Goodman, S. N.; Hruban, R. H.; Eby, Y. J.; Couch, M. J.; Forastiere, A. A.; Sidransky, D. Association between Cigarette Smoking and Mutation of the p53 Gene in Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med.* 1995;332(11):712-717.
47. Brink, JA. Technical aspects of helical (spiral) CT. *Radiol Clin North Am.* 1995;33(5):825-841.
48. Brown, M. R.; Noffsinger, A.; First, M. R.; Penn, I.; Husseinzadeh, N. HPV subtype analysis in lower genital tract neoplasms of female renal transplant recipients. *Gynecol Oncol.* 2000;79(2):220-224.
49. Brtko, J. Mechanizmus vnútrobunkového pôsobenia hormónov štítnej žľazy. *Vnitř. Lék.* 2006;52(10): 935-940.
50. Bruce, A; Johnson, A; Lewis, J; Raff, M; Roberts, K; Walter P. *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition. New York: Garland Science, 2002.
51. Byers, R. M.; Wolf, P. F.; Ballantyne, A. J. Rationale for elective modified neck dissection. *Head Neck Surg.* 1988;10(3):160-167.
52. Byers, R. M. Modified neck dissection. A study of 967 cases from 1970 to 1980. *Am J Surg.* 1985;150(4):414-421.
53. Cairns, P.; Polascik, T. J.; Eby, Y.; Tokino, K.; Califano, J.; Merlo, A.; Mao, L.; Herath, J.; Jenkins, R.; Westra, W.; et al. Frequency of homozygous deletion at p16/CDKN2 in primary human tumours. *Nat Genet.* 1995;11(2):210-212.
54. Campbell, R. S.; Baker, E.; Chippindale, A. J.; Wilson, G; McLean, N.; Soames, J. V.; Reed, M. F. MRI T staging of squamous cell carcinoma of the oral cavity: radiological-pathological correlation. *Clin Radiol.* 1995;50(8):533-40.
55. Canto, M. T.; Devesa, S. S. Oral cavity and pharynx cancer incidences rates in the United States, 1975–1998. *Oral Oncol.* 2002;38(6):610–617.
56. Carter, J. J.; Koutsky, L. A.; Wipf, G. C.; Christensen, N. D., Lee, S. K.; Kuypers, J.; Kiviat, N.; Galloway, D. A. The natural history of human papillomavirus type 16 capsid antibodies among a cohort of university women. *J Infect Dis.* 1996;174(5):927-936.
57. Castellsagué, X.; Quintana, M. J.; Martínez, M. C.; Nieto, A.; Sánchez, M. J.; Juan, A.; Monner, A.; Carrera, M.; Agudo, A.; Quer, M.; Muñoz, N.; Herrero, R.; Franceschi, S.; Bosch, F. X. The role of type of tobacco and type of alcoholic beverage in oral carcinogenesis. *Int J Cancer.* 2004;108(5):741-749.
58. Cengiz, M.; Özyiğit, G.; Yazici, G.; Doğan, A; Yildiz, F.; Zorlu, F.; Gürkaynak, M.; Gullu, I. H.; Hosal, S.; Akyol, F. Salvage reirradiation with stereotactic body radiotherapy for locally recurrent head-and-neck tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011;81(1):104-109.
59. Cengiz, S. E.; Cetinkaya, E.; Altin, S.; Gunluoglu, Z.; Demir, A.; Gunluoglu, G.; Epozturk, K. Nutritional and prognostic significance of sick euthyroid syndrome in non-small cell lung cancer patients. *Intern Med.* 2008;47(4):211-216.
60. Clayman, G. L.; el-Naggar, A. K.; Lippman, S. M.; Henderson, Y. C.; Frederick, M.; Merritt, J. A.; Zumstein, L. A.; Timmons, T. M.; Liu, T. J.; Ginsberg, L.; Roth, J. A.; Hong, W. K.; Brusio, P.; Goepfert, H. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in patients with advanced recurrent head and neck squamous cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 1998;16(6):2221-2232.
61. Clayman, G. L.; Liu, T. J.; Overholt, S. M.; Mobley, S. R.; Wang, M.; Janot, F.; Goepfert, H. Gene therapy for head and neck cancer. Comparing the tumor suppressor gene p53 and a cell cycle regulator WAF1/CIP1 (p21). *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1996;122:489-493.

62. Close, L. G.; Brown, P. M.; Vuitch, M. F.; Reisch, J.; Schaefer, S. D. Microvascular invasion and survival in cancer of the oral cavity and oropharynx. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1989;115(11):1304-1309.
63. Colevas, A. D.; Read, R.; Thornhill, J.; Adak, S.; Tishler, R.; Busse, P.; Li, Y.; Posner, M. Hypothyroidism incidence after multimodality treatment for stage III and IV squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;51(3):599-604.
64. Constine, L. S.; Donaldson, S. S.; McDougall, I. R. Thyroid dysfunction after radiotherapy in children with Hodgkin's disease. *Cancer.* 1984;53(4):878-883.
65. Conway, D. I.; Hashibe, M.; Boffetta, P.; INHANCE consortium; Wunsch-Filho, V.; Muscat, J.; La Vecchia, C.; Winn, D. M. Enhancing epidemiologic research on head and neck cancer: INHANCE – The international head and neck cancer epidemiology consortium. *Oral Oncol.* 2009;45(9):743-746.
66. Cooper, D. S. Thyroid disease in the oldest old. The exception to the rule. *JAMA.* 2004;292(21):2651-2654.
67. Corvò, R.; Giaretti, W.; Sanguineti, G.; Geido, E.; Orecchia, R.; Guenzi, M.; Margarino, G.; Bacigalupo, A.; Garaventa, G.; Barbieri, M.; et al. In vivo cell kinetics in head and neck squamous cell carcinomas predicts local control and helps guide radiotherapy regimen. *J Clin Oncol.* 1995;13(8):1843-50.
68. Cullen, A. P.; Reid, R.; Champion, M.; Lorincz, A. T. Analysis of the physical state of different human papillomavirus DNAs in intraepithelial and invasive cervical neoplasm. *J Virol.* 1991;65(2):606-612.
69. Curado, M. P.; Hashibe, M. Recent changes in the epidemiology of head and neck cancer. *Current Opinion in Oncology.* *Curr Opin Oncol.* 2009;21(3):194-200.
70. Čihák, R. *Anatomie 2. 2. vyd.* Praha: Grada Publishing, 2002, 470 s.
71. D'Souza, G.; Kreimer, A. R.; Viscidi, R.; Pawlita, M.; Fakhry, C.; Koch, W. M.; Westra, W. H.; Gillison, M. L. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. *N Engl J Med.* 2007;356(19):1944-1956.
72. de Jong, J. M.; van Daa1, W. A.; Elte, J. W.; Hordijk, G. J.; Frölich, M. Primary hypothyroidism as a complication after treatment of tumours of the head and neck. *Acta Radiol Oncol.* 1982;21(5):299-303.
73. DeGroot, L. J. Radiation and thyroid disease. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1988;2(3):777-791.
74. Dent, P.; Reardon, D. B.; Park, J. S.; Bowers, G.; Logsdon, C.; Valerie, K.; Schmidt-Ullrich, R. Radiation-induced release of transforming growth factor alpha activates the epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase pathway in carcinoma cells, leading to increased proliferation and protection from radiation-induced cell death. *Mol Biol Cell.* 1999;10(8):2493-506.
75. DiMaio, D.; Mattoon, D. Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. *Oncogene.* 2001;20(54):7866-7873.
76. Dische, S.; Saunders, M. I.; Bennett, M. H.; Wilson, G. D.; McNally, N. J. Cell proliferation and differentiation in squamous cancer. *Radiother Oncol.* 1989;15(1):19-23.
77. Dobbs, J.; Barrett A.; Ash, D. *Praktické plánování radioterapie.* Praha: Anomal, 1992.
78. Donnelly, M. J.; O'Meara, N.; O'Dwyer, T. P. Thyroid dysfunction following combined therapy for laryngeal carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1995;20(3):254-257.
79. Duensing, S.; Duensing, A.; Crum, C. P.; Munger, K. Human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein-induced abnormal centrosome synthesis is an early event in the evolving malignant phenotype. *Cancer Res.* 2001;61(6):2356-2360.
80. Duensing, S.; Munger, K. The human papillomavirus type 16 E6 and E7 oncoproteins independently induce numerical and structural chromosome instability. *Cancer Res.* 2002;62(23):7075-7082.
81. Edge, S. B.; Byrd D. R.; Carducci, M. A.; Compton, C. C. (Eds). *AJCC Cancer Staging Manual.* 7th ed. New York, NY Springer. 2009.
82. Eglin, R. P.; Scully, C.; Lehner, T.; Ward-Booth, P.; McGregor, I. A. Detection of RNA complementary to herpes simplex virus in human oral squamous cell carcinoma. *Lancet.* 1983;2(8353):766-768.
83. Einhorn, J.; Wikholm, G. Hypothyroidism after external irradiation to the thyroid region. *Radiology.* 1967;88(2):326-328.
84. Emami, B.; Lyman, J.; Brown, A.; Coia, L.; Goitein, M.; Munzenrider, J. E.; Shank, B.; Solin, L. J.; Wesson, M. Tolerance of normal tissue to therapeutic irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1991;21(1):109-122.
85. Evan, G. I.; Littlewood, T. D. The role of c-myc in cell growth. *Curr Opin Genet Dev.* 1993;3(1):44-49.

86. Fakhry, C.; Westra, W. H.; Li, S.; Cmelak, A.; Ridge, J. A.; Pinto, H.; Forastiere, A.; Gillison, M. L. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(4):261-269.
87. Felix, H.; Dupre, N.; Drape, M. Incidence a long terme d'une radiotherapie pour cancer du larynx, sur l'apprition d'un myxoedeme. *Lyon Med.* 1961;93:1043-1050.
88. Feltl, D.; Cvek, J. *Klinická radiobiologie*. 1. vyd. Havlíčkův Brod: Tobiáš, 2008, 105 s.
89. Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Ervik, M.; Dikshit, R.; Eser, S.; Mathers, C.; Rebelo, M.; Parkin, D. M.; Forman, D.; Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [online]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. Dostupné z: <http://globocan.iarc.fr> [cit. 2014-09-01].
90. Ferlay, J.; Parkin, D. M.; Steliarova-Foucher, E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur J Cancer.* 2010;46(4):765-81.
91. Field, J. K.; Kiaris, H.; Risk, J. M.; Tsiriyotis, C.; Adamson, R.; Zoumpourlis, V.; Rowley, H.; Taylor, K.; Whittaker, J.; Howard, P; et al. Allelotype of squamous cell carcinoma of the head and neck: fractional allele loss correlates with survival. *Br J Cancer.* 1995;72(5):1180-1188.
92. Field, J. K.; Lamothe, A.; Spandidos, D. A. Clinical relevance of oncogene expression in head and neck tumours. *Anticancer Res.* 1986;6(4):595-600.
93. Fishel, R.; Lescoe, M. K.; Rao, M. R.; Copeland, N. G.; Jenkins, N. A.; Garber, J.; Kane, M.; Kolodner, R. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell.* 1993;75(5):1027-1038.
94. Fölsch, U. R.; Kochsiek, K.; Schmidt, R. F. *Patologická fyziologie*. Přeložili Rokyta, R.; Mareš, J. a kol. Vyd. 1. Praha: Grada Publishing, 2003, 586 s.
95. Folsom, T. C.; White, C. P.; Bromer, L.; Canby, H. F.; Garrington, G. E. Oral exfoliative study. Review of the literature and report of a three-year study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1972;33(1):61-74.
96. Fomei, E.; Iervasi, G. The role of thyroid hormone in blood pressure homeostasis: evidence from short-term hypothyroidism in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(5):1996-2000.
97. Foo, M. L.; McCullough, E. C.; Foote, R. L.; Pisansky, T. M.; Shaw EG. Doses to radiation sensitive organs and structures located outside the radiotherapeutic target volume for four treatment situations. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1993;27(2):403-417.
98. Fouret, P. ; Monceaux, G. ; Temam, S. ; Lacourreye, L. ; St Guily, J. L. Human papillomavirus in head and neck squamous cell carcinomas in nonsmokers. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1997;123(5):513-516.
99. Frable, W. J.; Frable, M. A. Thin-needle aspiration biopsy in the diagnosis of head and neck tumors. *Laryngoscope.* 1974;84(7):1069-1077.
100. Franceschi, S.; Levi, F.; La Vecchia, C.; Conti, E.; Dal Maso, L.; Barzan, L.; Talamini, R. Comparison of the effect of smoking and alcohol drinking between oral and pharyngeal cancer. *Int J Cancer.* 1999;83(1):1-4.
101. Frazell, E. L., Lucas, J. C. Jr. Cancer of the tongue. Report of the management of 1,554 patients. *Cancer.* 1962;15:1085-99.
102. Frisch, M.; Biggar, R. J. Aetiological parallel between tonsillar and anogenital squamous-cell carcinomas. *Lancet.* 1999;354(9188):1442-1443.
103. Frisch, M.; Biggar, R. J.; Goedert, J. J. Human papillomavirus-associated cancers in patients with human immunodeficiency virus infection and acquired immunodeficiency syndrome. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(18):1500-1510.
104. Frisch, M.; Hjalgrim, H.; Jaeger, A. B.; Biggar, R. J. Changing patterns of tonsillar squamous cell carcinoma in the United States. *Cancer Causes Control.* 2000;11(6):489-495.
105. Fritz, A.; Percy, C.; Jack, A.; Shanmugaratnam, K.; Sobin, L.; Parkin, D. M.; Whelan, S. *International classification of diseases for oncology : ICD-O*. Geneva: World Health Organization, 2013.
106. Gaarenstroom, K. N.; Kenter, G. G.; Bonfrer, J. M.; Korse, C. M.; Gallee, M. P.; Hart, A. A.; et al. Prognostic significance of serum antibodies to human papillomavirus-16 E4 and E7 peptides in cervical cancer. *Cancer.* 1994;74(8):2307-2313.
107. Ganly, I.; Kirn, D.; Eckhardt, G.; Rodriguez, G. I.; Soutar, D. S.; Otto, R.; Robertson, A. G.; Park, O.; Gulley, M. L.; Heise, C.; Von Hoff, D. D.; Kaye, S. B. A phase I study of Onyx-015, an E1B attenuated adenovirus,

- administered intratumorally to patients with recurrent head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2000;6(3):798-806.
108. Ganong, W. F. *Přehled lékařské fyziologie.* 20. vyd. Praha: Galén, 2005, 890 s.
  109. Garcia-Serra, A.; Amdur, R. J.; Morris, C. G.; Mazzaferri, E.; Mendenhall, W. M. Thyroid function should be monitored following radiotherapy to the low neck. *Am J Clin Oncol.* 2005;28(3):255-258.
  110. Ghosh-Laskar, S. ; Kalyani, N.; Gupta, T.; Budrukkar, A.; Murthy, V.; Sengar, M.; Chaukar, D.; Pai, P.; Chaturvedi, P.; D'cruz, A.; Agarwal, J. P. Conventional radiotherapy vs concurrent chemoradiotherapy vs accelerated radiotherapy in loco-regionally advanced carcinoma of head and neck: Results of a prospective randomised trial. *Head Neck.* 2014 Sep 15 [Epub].
  111. Giaccia, A. J. (Ed.). *Radiobiology for the radiologist*, 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 303-327, 2006.
  112. Gibby WA. MR contrast agents: an overview. *Radiol Clin North Am.* 1988;26(5):1047-1058.
  113. Gillison, M. L.; Koch, W. M.; Capone, R. B. ; Spafford, M.; Westra, W. H.; Wu, L.; et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(9):709-720.
  114. Glatstein, E.; McHardy-Young, S.; Brast, N.; Eltringham, J. R.; Kriss, J. P. Alterations in serum thyrotropin (TSH) and thyroid function following radiotherapy in patients with malignant lymphoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971;32(6):833-41.
  115. Gleich, L. L.; Gluckman, J. L.; Nemunaitis, J.; Suen, J. Y.; Hanna, E.; Wolf, G. T.; Coltrera, M. D.; Villaret, D. B.; Wagman, L.; Castro, D.; Gapany, M.; Carroll, W.; Gillespie, D.; Selk, L. M. Clinical experience with HLA-B7 plasmid DNA/lipid complex in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2001;127(7):775-779.
  116. Gleich, L. L.; Salamone, F. N. Molecular genetics of head and neck cancer. *Cancer Control.* 2002;9(5):369-378.
  117. Gleich, L. L. Gene therapy for head and neck cancer. *Laryngoscope.* 2000;110(5 Pt 1):708-726.
  118. Gomez-Millan, J.; Fernández, J. R.; Medina Carmona, J. A. Current status of IMRT in head and neck cancer. *Rep Pract Oncol Radiother.* 2013;18(6):371-375.
  119. Grande C. Hypothyroidism following radiotherapy for head and neck cancer: multivariate analysis of risk factors. *Radiother Oncol.* 1992;25(1):31-36.
  120. Greenspan, F. S; Baxter J. D. *Základní a klinická endokrinologie.* 1. české vyd. Praha: H, 2003.
  121. Greven, K. M.; Williams, D. W.; Keyes, J. W. Jr.; McGuirt, W. F.; Watson, N. E. Jr.; Randall, M. E.; Raben, M.; Geisinger, K. R.; Cappellari, J. O. Positron emission tomography of patients with head and neck carcinoma before and after high dose irradiation. *Cancer.* 1994;74(4):1355-1359.
  122. Guillaumondegui, O. M.; Oliver, B.; Hayden, R. Cancer of the anterior floor of the mouth. Selective choice of treatment and analysis of failures. *Am J Surg.* 1980;140(4):560-562.
  123. Gupta, P. C.; Bhonsle, R. B.; Murti, P. R.; Daftary, D. K.; Mehta, F. S.; Pindborg, J. J. An epidemiologic assessment of cancer risk in oral precancerous lesions in India with special reference to nodular leukoplakia. *Cancer.* 1989;63(11):2247-2252.
  124. Gussekloo, J.; van Exel, E.; de Craen, A. J.; Meinders, A. E.; Frölich, M.; Westendorp, R. G. Thyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. *JAMA.* 2004;292(21):2591-2599.
  125. Haberkorn, U.; Strauss, L. G.; Dimitrakopoulou, A.; Seiffert, E.; Oberdorfer, F.; Ziegler, S.; Reisser, C.; Doll, J.; Helus, F.; van Kaick, G. Fluorodeoxyglucose imaging of advanced head and neck cancer after chemotherapy. *J Nucl Med.* 1993;34(1):12-17.
  126. Hak, A. E.; Pols, H. A.; Visser, T. J.; Drexhage, H. A.; Hofman, A.; Witteman, J.C. Subclinical hypothyreosis is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women. The Rotterdam study. *Ann Intern Med.* 2000;132(4):270-278.
  127. Hall E. J.; Giaccia, A. J. Dose-response relationships for model normal tissues. In: Hall, E. J.; Giaccia, A. J. (Ed.). *Radiobiology for the radiologist*, 6th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
  128. Hancock, S. L.; Cox, R. S.; McDougall, I. R. Thyroid disease after treatment of Hodgkin's disease. *N Engl J Med.* 1991;325(9):599-605.

129. Hancock, S. L.; McDougall, I. R.; Constine, L. S. Thyroid abnormalities after therapeutic external radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;31(5):1165-70.
130. Hannahan, D.; Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.
131. Hansen, L. S.; Olson, J. A.; Silverman, S. Jr. Proliferative verrucous leukoplakia. A long-term study of thirty patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1985;60(3):285-298.
132. Hansson, B. G.; Rosenquist, K.; Antonsson, A.; Wennerberg, J.; Schildt, E. B.; Bladström, A.; Andersson, G. Strong association between infection with human papillomavirus and oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma: a population-based case-control study in southern Sweden. *Acta Otolaryngol.* 2005;125(12):1337-1344.
133. Harrington, K. J.; Nutting, C. M.; Pandha, H. S. Gene therapy for head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2005;24(1):147-164.
134. Harris, C. C. Chemical and physical carcinogenesis: advances and perspectives for the 1990s. *Cancer Res.* 1991;51(18 Suppl):5023-5044.
135. Hart, I. R.; Saini, A. Biology of tumour metastasis. *Lancet.* 1992;339(8807):1453-1457.
136. Held, P.; Breit, A. MRI and CT of tumors of the pharynx: comparison of the two imaging procedures including fast and ultrafast MR sequences. *Eur J Radiol.* 1994;18(2):81-91.
137. Hemminki, K.; Dong, C.; Frisch, M. Tonsillar and other upper aerodigestive tract cancers among cervical cancer patients and their husbands. *Eur J Cancer Prev.* 2000;9(6):433-437.
138. Hengstschläger, M.; Knöfler, M.; Müllner, E. W.; Ogris, E.; Wintersberger, E.; Wawra, E. Different regulation of thymidine kinase during the cell cycle of normal versus DNA tumor virus-transformed cells. *J Biol Chem.* 1994;269(19):13836-13842.
139. Heron, D. E. Stereotactic body radiation therapy for recurrent head & neck cancers: rethinking nonoperative salvage strategies. *Future Oncol.* 2009;5(9):1321-1325.
140. Herrero, R.; Castellsague, X.; Pawlita, M.; Lissowska, J.; Kee, F.; Balaram, P.; et al. Human papillomavirus and oral cancer: the International Agency for Research on Cancer multicenter study. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(23):1772-1783.
141. Ho, G. Y.; Studentsov, Y. Y.; Bierman, R.; Burk, R. D. Natural history of human papillomavirus type 16 virus-like particle antibodies in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(1):110-116.
142. Holliday, E. B.; Frank, S. J. Proton radiation therapy for head and neck cancer: a review of the clinical experience to date. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2014;89(2):292-302.
143. Horiot, J. C.; Le Fur, R.; N'Guyen, T.; Chenal, C.; Schraub, S.; Alfonsi, S.; Gardani, G.; Van Den Bogaert, W.; Danczak, S.; Bolla, M.; et al. Hyperfractionation versus conventional fractionation in oropharyngeal carcinoma: final analysis of a randomized trial of the EORTC cooperative group of radiotherapy. *Radiother Oncol.* 1992;25(4):231-241.
144. Horiot, J. C.; Begg, A. C.; Le Fur, R.; Schraub, S.; van den Bogaert, W.; van Glabbeke, M.; Pierart, M. Present status of EORTC trials of hyperfractionated and accelerated radiotherapy on head and neck carcinoma. *Recent Results Cancer Res.* 1994;134:111-9.
145. Horwitz, E. M.; Frazier, A. J.; Martinez, A. A.; Keidan, R. D.; Clarke, D. H.; Lacerna, M. D.; Gustafson, G. S.; Heil, E.; Dmuchowski, C. F.; Vicini, F. A. Excellent functional outcome in patients with squamous cell carcinoma of the base of tongue treated with external irradiation and interstitial iodine 125 boost. *Cancer.* 1996;78(5):948-957.
146. Hu, J. C.; Coffin, R. S.; Davis, C. J.; Graham, N. J.; Groves, N.; Guest, P. J.; Harrington, K. J.; James, N. D.; Love, C. A.; McNeish, I.; Medley, L. C.; Michael, A.; Nutting, C. M.; Pandha H. S.; Shorrock, C. A.; Simpson, J.; Steine, J.; Steven, N. M.; Wright, D.; Coombes, R. C. A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res.* 2006;12(22):6737-6747.
147. Hubbert, N. L.; Sedman, S. A.; Schiller, J. T. Human papillomavirus type 16 E6 increases the degradation rate of p53 in human keratinocytes. *J Virol.* 1992;66(10):6237-6241.
148. Hudelist, G.; Manavi, M.; Pischinger, K.; Watkins-Riedel, T.; Singer, C. F.; Kubista, E.; et al. Physical state and expression of HPV DNA in benign and dysplastic cervical tissue: different levels of viral integration are correlated with lesion grade. *Gynecol Oncol.* 2004;92(3):873-880.

149. Chen, R. B.; Suzuki, K.; Nomura, T. Nakajima, T. Flow cytometric analysis of squamous cell carcinomas of the oral cavity in relation to lymph node metastasis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1993;51(4):397-401.
150. Chisholm, E.; Bapat, U; Chisholm, C.; Alusi, G.; Vassaux, G. Gene therapy in head and neck cancer: a review. *Postgrad Med J.* 2007;83(986):731-737.
151. Choi, S. Y.; Kahyo, H. Effect of Cigarette Smoking and Alcohol Consumption in the Aetiology of Cancer of the Oral Cavity, Pharynx and Larynx. *Int J Epidemiol.* 1991;20(4):878-885.
152. Chong, V. F.; Fan, Y. F. Detection of recurrent nasopharyngeal carcinoma: MR imaging versus CT. *Radiology.* 1997;202(2):463-470.
153. Chougule, A.; Kochar, B. Thyroid dysfunction following therapeutic external radiation to head and neck cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2011;12(2):443-445.
154. Iftner, T.; Elbel, M.; Schopp, B.; Hiller, T.; Loizou, J. I.; Caldecott, K. W.; Stubenrauch, F. Interference of papillomavirus E6 protein with single-strand break repair by interaction with XRCC1. *EMBO J.* 2002;21(17):4741-4748.
155. Imola, M. J.; Schramm, V. L. Jr. Orbital preservation in surgical management of sinonasal malignancy. *Laryngoscope.* 2002;112(8 Pt 1):1357-1365.
156. Ishwad, C. S.; Ferrell, R. E.; Rossie, K. N.; Appel, B. N.; Johnson, J. T.; Myers, E. N.; Law, J. C.; Srivastava, S.; Gollin, S. M. Loss of heterozygosity of the short arm of chromosomes 3 and 9 in oral cancer. *Int J Cancer.* 1996;69(1):1-4.
157. Jemal, A.; Bray, F.; Center, M. M.; Ferlay, J.; Ward, E.; Forman, D. Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2011;61(2):69-90.
158. Jeon, S.; Allen-Hoffmann, B. L.; Lambert, P. F. Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J Virol.* 1995;69(5):2989-2997.
159. Jereczek-Fossa, B. A.; Alterio, D.; Jassem, J.; Gibelli, B.; Tradati, N.; Orecchia, R. Radiotherapy induced thyroid disorders. *Cancer Treat Rev.* 2004;30(4):369-384.
160. Jiskra, J.; Límanová, Z.; Potluková, E.; Antořová, M. Význam screeningu tyreopatií u těhotných žen: patofysiologický podklad a praktické aspekty. *Čas Lék čes.* 2007;146:827-833.
161. Johnson, N. W.; Ransinghe, A. W.; Warnakulasuriya, K. A. Potentially malignant lesions and conditions of the mouth and oropharynx: natural history--cellular and molecular markers of risk. *Eur J Cancer Prev.* 1993;2 Suppl 2:31-51.
162. Joseph, B. S.; Pai, S. I. Human papillomavirus and the shifting trends in head and neck cancer. 2011 ASCO-Annual Meeting Educational Book. 2011; 212-216.
163. Kahaly, G. J. Cardiovascular and atherogenic aspects in subclinical hypothyroidism. *Thyroid.* 2000;10(8):665-679.
164. Kaihola, H. L.; Irjala, K.; Viikari, J.; Näntö, V. Determination of thyrotropin in serum by time-resolved fluoroimmunoassay evaluated. *Clin Chem.* 1985;31(10):1706-1709.
165. Kajanti, M.; Holsti, L. R.; Holsti, P. Radical surgery and postoperative split-course radiotherapy in squamous cell carcinoma of the mobile tongue: factors influencing local control and the time to recurrence. *Radiother Oncol.* 1991;22(3):174-179.
166. Kaušitz, J.; Altaner, Č. a kol. *Onkológia.* 1. vyd. Bratislava: Veda, 2003, 659 s.
167. Kearsley, J. H.; Thomas, S. Prognostic markers in cancers of the head and neck region. *Anticancer Drugs.* 1993;4(4):419-429.
168. Kessis, T. D.; Slebos, R. J.; Nelson, W. G.; Kastan, M. B.; Plunkett, B. S.; Han, S. M.; et al. Human papillomavirus 16 E6 expression disrupts the p53-mediated cellular response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90(9):3988-3992.
169. Khleif, S. N.; DeGregori, J.; Yee, C. L.; Otterson, G. A.; Kaye, F. J.; Nevins, J. R.; et al. Inhibition of cyclin D-CDK4/CDK6 activity is associated with an E2F-mediated induction of cyclin kinase inhibitor activity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93(9):4350-4354.
170. Khuri, F. R.; Nemunaitis, J.; Ganly, I.; Arseneau, J.; Tannock, I. F.; Romel, L.; Gore, M.; Ironside, J.; MacDougall, R. H.; Heise, C.; Randlev, B.; Gillenwater, A. M.; Brusio, P.; Kaye, S. B.; Hong, W. K.; Kirn, D. H. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. *Nat Med.* 2000;6(8):879-885.

171. Kiaris, H.; Jones, A.; Spandidos, D.; Vaughan, E.; Field, J. Loss of heterozygosity on chromosome-8 in squamous-cell carcinomas of the head and neck. *Int J Oncol.* 1994;5(6):1243-1248.
172. Kim, J. J.; Tannock, I. F. Repopulation of cancer cells during therapy: an important cause of treatment failure. *Nat Rev Cancer.* 2005;5(7):516-525.
173. Kim, S. K.; Ro, J. Y.; Kemp, B. L.; Lee, J. S.; Kwon, T. J.; Fong, K. M.; Sekido, Y.; Minna, J. D.; Hong, W. K.; Mao, L. Identification of three distinct tumor suppressor loci on the short arm of chromosome 9 in small cell lung cancer. *Cancer Res.* 1997;57(3):400-403.
174. Kirn, D.; Hermiston, T.; McCormick, F. ONYX-015: clinical data are encouraging. *Nat Med.* 1998;4(12):1341-1342.
175. Kirnbauer, R.; Hubbert, N. L.; Wheeler, C. M.; Becker, T. M.; Lowy, D. R.; Schiller, J. T. A virus-like particle enzyme-linked immunosorbent assay detects serum antibodies in a majority of women infected with human papillomavirus type 16. *J Natl Cancer Inst.* 1994;86(7):494-499.
176. Kittnar, O a kol. *Lékařská fyziologie.* 1. vyd. Praha: Grada, 2011, 790 s.
177. Klener, P. *Klinická onkologie.* 1. vyd. Praha: Galén, 2002, 686 s.
178. Klener, P. *Vnitřní lékařství.* 4. vyd. Praha: Karolinum, 2011, 1174 s.
179. Klingelutz, A. J.; Foster, S. A.; McDougall, J. K. Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature.* 1996;380(6569):79-82.
180. Klussmann, J. P.; Weissenborn, S. J.; Wieland, U.; Dries, V.; Kolligs, J.; Jungehulsing, M.; et al. Prevalence, distribution, and viral load of human papillomavirus 16 DNA in tonsillar carcinomas. *Cancer.* 2001;92(11):2875-2884.
181. Koc, M.; Capoglu, I. Thyroid dysfunction in patients treated with radiotherapy for neck. *Am J Clin Oncol.* 2009;32(2):150-153.
182. Kodani, N.; Yamazaki, H.; Tsubokura, T.; Shiomi, H.; Kobayashi, K.; Nishimura, T.; Aibe, N.; Ikeno, H.; Nishimura, T. Stereotactic body radiation therapy for head and neck tumor: disease control and morbidity outcomes. *J Radiat Res.* 2011;52(1):24-31.
183. Koch, W. M.; Lango, M.; Sewell, D.; Zahurak, M.; Sidransky, D. Head and neck cancer in nonsmokers: a distinct clinical and molecular entity. *The Laryngoscope.* 1999;109(10):1544-1551.
184. Koutsky, L. A.; Wolner-Hanssen, P. Genital papillomavirus infections: current knowledge and future prospects. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1989;16(3):541-564.
185. Kuna, P., Navrátil, L. a kol. *Klinická radiobiologie.* 1. vyd. Praha: Manus, 2005, 222 s.
186. Kupferman, M. E.; Myers, J. N. Molecular biology of oral cavity squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Clin North Am.* 2006;39(2):229-247.
187. Kuten, A.; Lubochitski, R.; Fisherman, G.; Dále, J.; Stein, M. E. Postradiotherapy hypothyroidism: radiation dose response and chemotherapeutic radiosensitization at less than 40 Gy. *J Surg Oncol.* 1996 Apr;61(4):281-283.
188. Kvetny, J.; Heldgaard, P. E.; Bladbjerg, E. M.; et al. Subclinical hypothyroidism is associated with low-grade inflammation, increased triglyceride levels and predicts cardiovascular disease in males below 50 years. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61(2):232-238.
189. Ladenson, P. W.; Levin, A. A.; Ridgway, E. C.; Daniels, G. H. Complications of surgery in hypothyroid patients. *Am J Med.* 1984;77(2):261-266.
190. Ladenson, P. W.; Singer, P. A.; Ain, K. B.; Bagchi, N.; Bigos, S. T.; Levy, E. G.; Smith, S. A.; Daniels, G. H.; Cohen, H. D. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med.* 2000;160(11):1573-1575.
191. Largey, J. S.; Meltzer, S. J.; Yin, J.; Norris, K.; Sauk, J. J.; Archibald, D. W. Loss of heterozygosity of p53 in oral cancers demonstrated by the polymerase chain reaction. *Cancer.* 1993;71(6):1933-1937.
192. Leach, F. S.; Nicolaidis, N. C.; Papadopoulos, N.; Liu, B.; Jen, J.; Parsons, R.; Peltomäki, P.; Sistonen, P.; Aaltonen, L. A.; Nyström-Lahti, M.; et al. Mutations of a mutS homolog in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Cell.* 1993;75(6):1215-1225.
193. Lee, C. S.; Redshaw, A.; Boag, G. nm23-H1 protein immunoreactivity in laryngeal carcinoma. *Cancer.* 1996;77(11):2246-2250.



194. Lee, N.; Ye, Y.; Li, X.; Schweitzer, C.; Nisen, P. Allelic loss on chromosome-13 can precede histological-changes in head and neck-cancer. *Int J Oncol.* 1994;5(2):205-210.
195. Leemans, C. R.; Tiwari, R.; Nauta, J. J.; van der Waal, I.; Snow, G. B. Regional lymph node involvement and its significance in the development of distant metastases in head and neck carcinoma. *Cancer.* 1993;71(2):452-456.
196. Lewin, F.; Norell, S. E.; Johansson, H.; Gustavsson, P.; Wennerberg, J.; Biörklund, A.; Rutqvist, L. E. Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in the etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer.* 1998;82(7):1367-1375.
197. Liening, D. A.; Duncan, N. O.; Blakeslee, D. B.; Smith, D. B. Hypothyroidism following radiotherapy for head and neck cancer. *Laryngol Head Neck Surg.* 1990;103(1):10-13.
198. Lim, S. H.; Thomas, D. W.; Coleman, S.; Stephens, P. T cell receptor Vbeta repertoire of tumour-infiltrating lymphocytes in oral squamous-cell carcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 1996;42(1):69-70.
199. Límanová, Z. Štítná žláza. 1. vyd. Praha: Galén, 2006, 371 s.
200. Límanová, Z.; Fiedler, J.; Češka, R. Are the thyroid function disturbances correctly diagnosed before hypolipidemic drugs administration? *Thyroid Gland.* 2000;1:19-27.
201. Lin, E.; Nemunaitis, J. Oncolytic viral therapies. *Cancer Gene Ther* 2004;11:643-664.
202. Lindberg, L. G.; Akerman, M. Aspiration cytology of salivary gland tumors: diagnostic experience from six years of routine laboratory work. *Laryngoscope.* 1976;86(4):584-594.
203. Lindberg, R. Distribution of cervical lymph node metastases from squamous cell carcinoma of the upper respiratory and digestive tracts. *Cancer.* 1972;29(6):1446-1449.
204. Lindel, K.; Beer, K. T.; Laissue, J.; Greiner, R. H.; Aebbersold, D. M. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. *Cancer.* 2001;92(4):805-813.
205. Linsley, P. S.; Brady, W.; Grosmaire, L.; Aruffo, A.; Damle, N. K.; Ledbetter, J. A. Binding of the B cell activation antigen B7 to CD28 costimulates T cell proliferation and interleukin 2 mRNA accumulation. *J Exp Med.* 1991;173(3):721-730.
206. Liu, B. L.; Robinson, M.; Han, Z. Q.; Branston, R. H.; English, C.; Reay, P.; McGrath, Y.; Thomas, S. K.; Thornton, M.; Bullock, P.; Love, C. A.; Coffin, R. S. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther.* 2003;10(4):292-303.
207. Liu T. J.; Zhang, W. W.; Taylor, D. L.; Roth, J. A.; Goepfert, H.; Clayman, G. L. Growth suppression of human head and neck cancer cells by the introduction of a wild-type p53 gene via a recombinant adenovirus. *Cancer Res.* 1994;54(14):3662-3667.
208. Llewellyn, C. D.; Linklater, K.; Bell, J.; Johnson, N. W.; Warnakulasuriya, K. A. Squamous cell carcinoma of the oral cavity in patients aged 45 years and under: a descriptive analysis of 116 cases diagnosed in the South East of England from 1990 to 1997. *Oral Oncology.* 2003; 39(2):106-114.
209. Lo Galbo, A. M.; de Bree, R.; Kuik, D. J.; Lips, P. T.; Mary, B.; Von Blumberg, E.; Langendijk, J. A.; Leemans, C. R. The prevalence of hypothyroidism after treatment for laryngeal and hypopharyngeal carcinomas: are autoantibodies of influence? *Acta Otolaryngol.* 2007;127(3):312-317.
210. Luboshitzky, R.; Oberman, A. S.; Kaufman, N.; Reichman, N.; Flatau, E. Prevalence of cognitive dysfunction and hypothyroidism in an elderly community population. *Isr J Med Sci.* 1996;32(1):60-65.
211. Lukeš, J.; Koranda, P. Laboratorní diagnostika onemocnění štítné žlázy. *Interní medicína pro praxi.* 2003;3:120-123.
212. Macfarlane, G. J.; Zheng, T.; Marshall, J. R.; Boffetta, P.; Niu, S.; Brasure, J.; Merletti, F.; Boyle, P. Alcohol, tobacco, diet and the risk of oral cancer: a pooled analysis of three case-control studies. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1995;31B(3):181-187.
213. Maestro, R.; Piccinin, S.; Doglioni, C.; Gasparotto, D.; Vukosavljevic, T.; Sulfaro, S.; Barzan, L.; Boiocchi, M. Chromosome 13q deletion mapping in head and neck squamous cell carcinomas: identification of two distinct regions of preferential loss. *Cancer Res.* 1996;56(5):1146-1150.
214. Mancuso, A. A.; Drane, W. E.; Mukherji, S. K. The promise FDG in diagnosis and surveillance of head and neck cancer. *Cancer.* 1994;74(4):1193-1195.

215. Mann, V. M.; de Lao, S. L.; Brenes, M.; Brinton, L.; Rawls, J. A.; Green, M.; et al. Occurrence of IgA and IgG antibodies to select peptides representing human papillomavirus type 16 among cervical cancer cases and controls. *Cancer Res.* 1990;50(24):7815-7819.
216. Mantovani, F.; Banks, L. The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene.* 2001;20(54):7874-7887.
217. Mao, E. J.; Smith, C. J. Detection of Epstein-Barr virus (EBV) DNA by the polymerase chain reaction (PCR) in oral smears from healthy individuals and patients with squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 1993;22(1):12-17.
218. Mao, L.; El-Naggar, A. K.; Fan, Y. H.; Lee, J. S.; Lippman, S. M.; Kayser, S.; Lotan, R.; Hong, W. K. Telomerase activity in head and neck squamous cell carcinoma and adjacent tissues. *Cancer Res.* 1996;56(24):5600-5604.
219. Marais, D.; Passmore, J. A.; Maclean, J.; Rose, R.; Williamson, A. L. A recombinant human papillomavirus (HPV) type 16 L1-vaccinia virus murine challenge model demonstrates cell-mediated immunity against HPV virus-like particles. *J Gen Virol.* 1999;80 ( Pt 9):2471-2475.
220. Marcial-Vega, V. A.; Cardenas, H.; Perez, C. A.; Devineni, V. R.; Simpson, J. R.; Fredrickson, J. M.; Sessions, D. G.; Spector, G. G.; Thawley, S. E. Cervical metastases from unknown primaries: radiotherapeutic management and appearance of subsequent primaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;19(4):919-928.
221. Marcus, R. B. Jr.; Million, R. R. The incidence of myelitis after irradiation of the cervical spinal cord. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;19(1):3-8.
222. Marur, S.; D'Souza, G.; Westra, W. H.; Forastiere, A. A. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol.* 2010;11(8):781-789.
223. Mashberg, A.; Samit, A. M. Early detection, diagnosis, and management of oral and oropharyngeal cancer. *CA Cancer J Clin.* 1989;39(2):67-88.
224. Massimi, P.; Pim, D.; Banks, L. Human papillomavirus type 16 E7 binds to the conserved carboxy-terminal region of the TATA box binding protein and this contributes to E7 transforming activity. *J Gen Virol.* 1997;78 (Pt 10):2607-2613.
225. Mathers, C.; Fat, D. M.; Boerma, J. The global burden of disease: 2004 update. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2008, 146 s.
226. Mayer, O. je subklinická hypothyreóza rizikovým faktorem kardiovaskulárních chorob? *Cor Vasa.* 2004;46(3):123-127.
227. Mayer, O. Jr.; Šimon, J.; Rosolová H.; et al. On behalf EuroAspire I. and II. study groups. The pursuit of secondary prevention targets in Czech coronary patients. A comparison of EuroAspire I. and II. surveys. *Centr Eur J Public Health.* 2000;10:107-111.
228. Mazánek, J. Nádory orofaciální oblasti. 1. Vydání. Praha: East Publishing Victoria Publishing. 1997, 391 s.
229. McIntyre, M. C.; Ruesch, M. N.; Laimins, L. A. Human papillomavirus E7 oncoproteins bind a single form of cyclin E in a complex with cdk2 and p107. *Virology.* 1996;215(1):73-82.
230. McKaig, R. G.; Baric, R. S.; Olshan, A. F. Human papillomavirus and head and neck cancer: epidemiology and molecular biology. *Head and Neck.* 1998; 20(3):250-265.
231. Mehanna, H.; Paleri, V.; West, C. M.; Nutting, C. Head and neck cancer--Part 1: Epidemiology, presentation, and prevention. *BMJ.* 2010;341:c4684.
232. Mercado, G.; Adelstein, D. J.; Saxton, J. P.; Secic, M.; Larto, M. A.; Lavertu, P. Hypothyroidism: a frequent event after radiotherapy and after radiotherapy with chemotherapy for patients with head and neck carcinoma. *Cancer.* 2001;92(11):2892-2897.
233. Meschede, W.; Zumbach, K.; Braspenning, J.; Scheffner, M.; Benitez-Bribiesca, L.; Luande, J.; et al. Antibodies against early proteins of human papillomaviruses as diagnostic markers for invasive cervical cancer. *J Clin Microbiol.* 1998;36(2):475-480.
234. Michl, P.; Pazdera, J.; Procházka, M.; Pink, R.; Štosova, T. Human papillomavirus in the etiology of head and neck carcinomas. *Biomedical Papers.* 2010;154(1):9-12.
235. Miller, C. S.; Johnstone, B. M. Human papillomavirus as a risk factor for oral squamous cell carcinoma: a meta-analysis, 1982-1997. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001;91(6):622-635.

236. Mini, S.; Dori, S.; Horowitz, Z.; Bedrin, L.; Peleg, M.; Wolf, M.; Shoshani, Y.; Taicher, S.; Kronenberg, J.; Talmi, Y. P. Pretreatment prevalence of hypothyroidism in patients with head and neck carcinoma. *Cancer*. 2001;92(6):1512-1515.
237. Mizoe, J. E.; Hasegawa, A.; Jingu, K.; Takagi, R.; Bessyo, H.; Morikawa, T.; Tonoki, M.; Tsuji, H.; Kamada, T.; Tsujii, H.; Okamoto, Y.; Organizing Committee for the Working Group for Head Neck Cancer. Results of carbon ion radiotherapy for head and neck cancer. *Radiother Oncol*. 2012;103(1):32-37.
238. Mork, J.; Lie, A. K.; Glatte, E.; Hallmans, G.; Jellum, E.; Koskela, P.; et al. Human papillomavirus infection as a risk factor for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*. 2001;344(15):1125-1131.
239. Munger, K.; Howley, P. M. Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res*. 2002;89(2):213-228.
240. Munger, K.; Werness, B. A.; Dyson, N.; Phelps, W. C.; Harlow, E.; Howley, P. M. Complex formation of human papillomavirus E7 proteins with the retinoblastoma tumor suppressor gene product. *EMBO J*. 1989;8(13):4099-4105.
241. Munyo-Estefan, A.; Lopez-Paullier, M.; Charlone-Granucci, R.; Peña-Rehbein, J. L.; d'Albora-Rivas, R.; Schiavo-Viviani, L. Thyroid function alteration in patients with radiation therapy of the neck. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2009;60(4):268-271.
242. Muraki, A. S.; Mancuso, A. A.; Harnsberger, H. R. Metastatic cervical adenopathy from tumors of unknown origin: the role of CT. *Radiology*. 1984;152(3):749-753.
243. Murken, R. E.; Duvall, A. J.: Hypothyroidism following combined therapy in carcinoma of the laryngopharynx. *Laryngoscope*. 1972;82(7):1306-1314.
244. Murkin, J. M. Anesthesia and hypothyroidism: a review of thyroxine physiology, pharmacology, and anesthetic implications. *Anesth Analg*. 1982;61(4):371-383.
245. Murphy, B. E.; Pattee, C. J. Determination of thyroxine utilizing the property of protein-binding. *J Clin Endocrinol Metab*. 1964;24:187-196.
246. Murphy, E. D.; Scanlon, E. F.; Garces, R. M.; Khandekar, J. D.; Bailey, L. Thyroid hormone administration in irradiated patients. *J Surg Oncol*. 1986;31(3):214-217.
247. Navratil, L.; Rosina, J. a kol. *Medicnsk biofyzika*. 1. Vydn. Praha: Grada. 2005. s. 435-436.
248. Nawroz, H.; van der Riet, P.; Hruban, R. H.; Koch, W.; Ruppert, J. M.; Sidransky, D. Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 1994;54(5):1152-1155.
249. Nead, M. A.; Baglia, L. A.; Antinore, M. J.; Ludlow, J. W.; McCance, D. J. Rb binds c-Jun and activates transcription. *EMBO J*. 1998;17(8):2342-2352.
250. Nemunaitis, J.; Khuri, F.; Ganly, I.; Arseneau, J.; Posner, M.; Vokes, E.; Kuhn, J.; McCarty, T.; Landers, S.; Blackburn, A.; Romel, L.; Randlev, B.; Kaye, S.; Kirn, D. Phase II trial of intratumoral administration of ONYX-015, a replication-selective adenovirus, in patients with refractory head and neck cancer. *J Clin Oncol*. 2001;19(2):289-298.
251. Nishiyama, K.; Tanaka, E.; Tarui, Y.; Miyauchi, K.; Okagawa, K. A prospective analysis of subacute thyroid dysfunction after neck irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996;34(2):439-444.
252. Oda, H.; Kumar, S.; Howley, P. M. Regulation of the Src family tyrosine kinase Blk through E6AP-mediated ubiquitination. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96(17):9557-9562.
253. Olsen, J.; Sabroe, S.; Ipsen, J. Effect of combined alcohol and tobacco exposure on risk of cancer of the hypopharynx. *J Epidemiol Community Health*. 1985;39(4):304-307.
254. Palmer, B. V.; Shaw, H. J. Thyroid function after radiotherapy and laryngectomy for carcinoma of the larynx. *Head Neck Surg*. 1981;4(1):13-15.
255. Parkin, D. M.; Bray, F.; Ferlay, J.; Pisani, P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*. 2005;55(2):74-108.
256. Partridge, M.; Emilion, G.; Langdon, J. D. LOH at 3p correlates with a poor survival in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*. 1996;73(3):366-371.
257. Partridge, M.; Emilion, G.; Pateromichelakis, S.; Phillips, E.; Langdon, J. Field cancerisation of the oral cavity: comparison of the spectrum of molecular alterations in cases presenting with both dysplastic and malignant lesions. *Oral Oncol*. 1997;33(5):332-337.

258. Pateromichelakis, S.; Lee, G.; Langdon, J. D.; Partridge, M. The FHIT gene in oral squamous cell carcinoma: allelic imbalance is frequent but cDNA aberrations are uncommon. *Oral Oncol.* 2000;36(2):180-188.
259. Pecora, A. L.; Rizvi, N.; Cohen, G. I.; Meropol, N. J.; Serman, D.; Marshall, J. L.; Goldberg, S.; Gross, P.; O'Neil, J. D.; Groene, W. S.; Roberts, M. S.; Rabin, H.; Bamat, M. K.; Lorence, R. M. Phase I trial of intravenous administration of PV701, an oncolytic virus, in patients with advanced solid cancers. *J Clin Oncol.* 2002;20(9):2251-2266.
260. Penfold, C. N.; Partridge, M.; Rojas, R.; Langdon, J. D. The role of angiogenesis in the spread of oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1996;34(1):37-41.
261. Peng Z. Current status of gendicine in China: recombinant human Ad-p53 agent for treatment of cancers. *Hum Gene Ther.* 2005;16(9):1016-1027.
262. Pernot, M.; Aletti, P.; Carolus, J. M.; Marquis, I.; Hoffstetter, S.; Maaloul, F.; Peiffert, D.; Lapeyre, M.; Luporsi, E.; Marchal, C.; et al. Indications, techniques and results of postoperative brachytherapy in cancer of the oral cavity. *Radiother Oncol.* 1995;35(3):186-192.
263. Petera, J. Moderní radioterapeutické metody, V. díl Brachyterapie. 1. vyd. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví v Brně, 1998, 33 s.
264. Pett, M. R.; Alazawi, W. O.; Roberts, I.; Downen, S.; Smith, D. I.; Stanley, M. A.; et al. Acquisition of high-level chromosomal instability is associated with integration of human papillomavirus type 16 in cervical keratinocytes. *Cancer Res.* 2004;64(4):1359-1368.
265. Pignon, J. P.; Bourhis, J.; Domenge, C.; Designé, L. Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. *Lancet.* 2000;355(9208):949-955.
266. Posner, M. R.; Ervin, T. J.; Fabian, R. L.; Weichselbaum, R. R.; Miller, D.; Norris, C. M. Jr.; Weichselbaum, R. R.; Rose, C. Incidence of hypothyroidism following multimodality treatment for advanced squamous cell cancer of the head and neck. *Laryngoscope.* 1984;94(4):451-454.
267. Puck, T. T.; Marcus, P. I. Action of x-rays on mammalian cells. *J Exp Med.* 1956;103(5):653-666.
268. Rabkin, C. S.; Biggar, R. J.; Melbye, M.; Curtis, R. E. Second primary cancers following anal and cervical carcinoma: evidence of Sharp etiologic factors. *Am J Epidemiol.* 1992;136(1):54-58.
269. Ragin, C. C.; Taioli, E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: Review and metaanalysis. *Int J Cancer.* 2007;121(8):1813-1820.
270. Ragin, C. C.; Modugno, F.; Gollin, S. M. The epidemiology and risk factors of head and neck cancer: a focus on human papillomavirus. *J Dent Res.* 2007;86(2):104-114.
271. Rees Smith, B.; McLachlan, S. M.; Furmaniak, J. Autoantibodies to the thyrotropin receptor. *Endocr Rev.* 1988;9(1):106-121.
272. Rejthar, A.; Vojtěšek, B: *Obecná patologie nádorového růstu*, Praha: Grada Publishing, 2002, 208 s.
273. Renan, M. J. How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data. *Mol Carcinog.* 1993;7(3):139-146.
274. Reznikoff, C. A.; Yeager, T. R.; Belair, C. D.; Savelieva, E.; Puthenveetil, J. A.; Stadler, W. M. Elevated p16 at senescence and loss of p16 at immortalization in human papillomavirus 16 E6, but not E7, transformed human uroepithelial cells. *Cancer Res.* 1996;56(13):2886-2890.
275. Ricardi, U.; Corrias, A.; Einaudi, S.; Genitori, L.; Sandri, A.; di Montezemolo, L. C.; Besenon, L.; Madon, E.; Urgesi, A. Thyroid dysfunction as a late effect in childhood medulloblastoma: a comparison of hyperfractionated versus conventionally fractionated cranio-spinal irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2001;50(5):1287-1294.
276. Robbins, K. T.; Medina, J. E.; Wolfe, G. T.; Levine, P. A.; Sessions, R. B.; Pruet, C. W. Standardizing neck dissection terminology. Official report of the Academy's Committee for Head and Neck Surgery and Oncology. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1991;117(6):601-605.
277. Robert, F.; Ezekiel, M. P.; Spencer, S. A.; Meredith, R. F.; Bonner, J. A.; Khzaeli, M. B.; Saleh, M. N.; Carey, D.; LoBuglio, A. F.; Wheeler, R. H.; Cooper, M. R.; Waksal, H. W. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol.* 2001;19(13):3234-3243.

278. Rocco, J. W.; Li, D.; Liggett, W. H.; Jr, Duan, L.; Saunders, J. K. Jr, Sidransky D, O'Malley, B. W. Jr. p16INK4A adenovirus-mediated gene therapy for human head and neck squamous cell cancer. *Clin Cancer Res.* 1998;4(7):1697-1704.
279. Roh, K. W.; Jang, J. S.; Kim, M. S.; Sun, D. I.; Kim, B. S.; Jung, S. L.; Kang, J. H.; Yoo, E. J.; Yoon, S. C.; Jang, H. S.; Chung, S. M.; Kim, Y. S. Fractionated stereotactic radiotherapy as reirradiation for locally recurrent head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;74(5):1348-1355.
280. Ronco, L. V.; Karpova, A. Y.; Vidal, M.; Howley, P. M. Human papillomavirus 16 E6 oncoprotein binds to interferon regulatory factor-3 and inhibits its transcriptional activity. *Genes Dev.* 1998;12(13):2061-2072.
281. Rowley, H.; Jones, A. S.; Field, J. K. Chromosome 18: a possible site for a tumour suppressor gene deletion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1995;20(3):266-271.
282. Rumsby, G.; Carter, R. L.; Gusterson, B. A.; Low incidence of ras oncogene activation in human squamous cell carcinomas. *Br J Cancer.* 1990;61(3):365-368.
283. Rwigema, J. C.; Heron, D. E.; Ferris, R. L.; Andrade, R. S.; Gibson, M. K.; Yang, Y.; Ozhasoglu, C.; Argiris, A. E.; Grandis, J. R.; Burton, S. A. The impact of tumor volume and radiotherapy dose on outcome in previously irradiated recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck treated with stereotactic body radiation therapy. *Am J Clin Oncol.* 2011;34(4):372-379.
284. Sanchíz, F.; Millá, A.; Torner, J.; Bonet, F.; Artola, N.; Carreño, L.; Moya, L. M.; Riera, D.; Ripol, S.; Cirera, L. Single fraction per day versus two fractions per day versus radiochemotherapy in the treatment of head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1990;19(6):1347-1350.
285. Saranath, D.; Bhoite, L. T. Deo MG. Molecular lesions in human oral cancer: the Indian scene. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1993;29B(2):107-112.
286. Sasse, A. D.; Clark, L. G.; Sasse, E. C.; Clark, O. A. Amifostine reduces side effects and improves complete response rate during radiotherapy: results of a meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;64(3):784-91.
287. Saunders, M. I.; Dische, S.; Barrett, A.; Parmar, M. K.; Harvey, A.; Gibson, D. Randomised multicentre trials of CHART vs conventional radiotherapy in head and neck and non-small-cell lung cancer: an interim report. CHART Steering Committee. *Br J Cancer.* 1996;73(12):1455-1462.
288. Scully, C. Oncogenes, tumor suppressors and viruses in oral squamous carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 1993;22(8):337-347.
289. Searle, P. F.; Chen, M. J.; Hu, L.; Race, P. R.; Lovering, AL.; Grove, J. I.; Guise, C.; Jaberipour, M.; James, N. D.; Mautner, V.; Young, L. S.; Kerr, D. J.; Mountain, A.; White, S. A.; Hyde, E. I. Nitroreductase: a prodrug-activating enzyme for cancer gene therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2004;31(11):811-816.
290. Sedaghat, A. R.; Zhang, Z.; Begum, S.; et al. Prognostic significance of human papillomavirus in oropharyngeal squamous cell carcinomas. *Laryngoscope.* 2009;119(8):1542-1549.
291. Seino, Y.; Matsukura S.; Inoue, Y.; Kadowaki, S.; Mori, K.; Imura H. Hypogastrinemia in hypothyroidism. *Am J Dig Dis.* 1978;23(2):189-91.
292. Seiwert, T. Y.; Salama, J. K.; Vokes, E. E. The chemoradiation paradigm in head and neck cancer. *Nat Clin Pract Oncol.* 2007;4(3):156-171.
293. Sengül, E.; Cetinarıslan, B.; Tarkun, I.; Cantürk, Z.; Türemen E. Homocysteine concentrations in subclinical hypothyroidism. *Endocr Res.* 2004;30(3):351-359.
294. Shafer, R. B.; Nuttall, F. Q.; Pollack, K.; Kuisk, H. Thyroid function after radiation and surgery for head and neck cancer. *Arch Intern Med.* 1975;135(6):843-846.
295. Shah, J. P.; Medina, J. E.; Shaha, A. R.; et al. Cervical lymph node metastasis. In: Wells SA (cd) *Current problems in surgery.* Chicago: Mosby, 1993, s. 273-344.
296. Shaha, A. R. Preoperative evaluation of the mandible in patients with carcinoma of the floor of mouth. *Head Neck.* 1991;13(5):398-402.
297. Shang, J.; Gu, J.; Han, Q.; Xu, Y.; Yu, X.; Wang, K. Chemoradiotherapy is superior to radiotherapy alone after surgery in advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2014;7(9):2478-2487.
298. Shiboski, CH.; Schmidt, B. L.; Jordan, R. C. Tongue and tonsil carcinoma: increasing trends in the US population ages 20-44 years. *Cancer.* 2005;103(9):1843-1849.

299. Shimizutani, K.; Koseki, Y.; Inoue, T.; Teshima, T.; Furukawa, S.; Kubo, K.; Fuchihata, H.; Masaki, N.; Ikeda, H.; Tanaka, Y. Application of <sup>198</sup>Au grains for carcinoma of oral cavity. *Strahlenther Onkol.* 1995;171(1):29-34.
300. Shin, D. M.; Donato, N. J.; Perez-Soler, R.; Shin, H. J.; Wu, J. Y.; Zhang, P.; Lawhorn, K.; Khuri, F. R.; Glisson, B. S.; Myers, J.; Clayman, G.; Pfister, D.; Falcey, J.; Waksal, H.; Mendelsohn, J.; Hong, W. K. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy with C225 and cisplatin in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2001;7(5):1204-1213.
301. Shingaki, S.; Suzuki, I.; Nakajima, T.; Kawasaki, T. Evaluation of histopathologic parameters in predicting cervical lymph node metastasis of oral and oropharyngeal carcinomas. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988;66(6):683-688.
302. Scheffner, M.; Huibregtse, J. M.; Vierstra, R. D.; Howley, P. M. The HPV-16 E6 and E6-AP complex functions as a ubiquitin-protein ligase in the ubiquitination of p53. *Cell.* 1993;75(3):495-505.
303. Schiff, P. B.; Harrison, L. B.; Strong, E. W.; Fass, D. E.; Shah, J. P.; Spiro, R.; Sessions, R.; Gerold, F.; Vikram, B.; Fuks, Z. Y. Impact of the time interval between surgery and postoperative radiation therapy on locoregional control in advanced head and neck cancer. *J Surg Oncol.* 1990;43(4):203-208.
304. Schiffman, M.; Herrero, R.; DeSalle, R.; Hildesheim, A.; Wacholder, S.; Rodriguez, A. C.; et al. The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 2005;337(1):76-84.
305. Schmidt-Ullrich, R. K.; Johnson, C. R.; Khandelwal, S.; Wazer, D. E. Concomitant boost-accelerated, superfractionated irradiation for the treatment of advanced carcinomas of the oral cavity and oropharynx. *Recent Results Cancer Res.* 1994;134:69-79.
306. Schwartz, S. M.; Daling, J. R.; Doody, D. R.; Wipf, G. C.; Carter, J. J.; Madeleine, M. M.; et al. Oral cancer risk in relation to sexual history and evidence of human papillomavirus infection. *J Natl Cancer Inst.* 1998;90(21):1626-1636.
307. Siddiqui, F.; Patel, M.; Khan, M.; McLean, S.; Dragovic, J.; Jin, J. Y.; Movsas, B.; Ryu, S. Stereotactic body radiation therapy for primary, recurrent, and metastatic tumors in the head-and-neck region. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;74(4):1047-1053.
308. Silins, I.; Avall-Lundqvist, E.; Tadesse, A.; Jansen, K. U.; Stendahl, U.; Lenner, P.; et al. Evaluation of antibodies to human papillomavirus as prognostic markers in cervical cancer patients. *Gynecol Oncol.* 2002;85(2):333-338.
309. Silverman, S.; Jr Gorsky, M.; Kaugars, G. E. Leukoplakia, dysplasia, and malignant transformation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1996;82(2):117.
310. Sinard, R. J.; Tobin, E. J.; Mazzaferri, E. L.; Hodgson, S. E.; Young, D. C.; Kunz, A. L.; Malhotra, P. S.; Fritz, M. A.; Schuller, D. E. Hypothyroidism after treatment for non-thyroid head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000;126(5):652-657.
311. Singhi, A. D.; Westra, W. H. Comparison of human papillomavirus in situ hybridization and p16 immunohistochemistry in the detection of human papillomavirus-associated head and neck cancer based on a prospective clinical experience. *Cancer.* 2010;116(9):2166-2173.
312. Slootweg, P. J.; de Pagter, M.; de Weger, R. A.; de Wilde, P. C.; Lymphocytes at tumor margins in patients with head and neck cancer. Relationship with tumor size, human lymphocyte antigen molecules, and metastasis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1994;23(5):286-289.
313. Smeets, S. J.; Hesselink, A. T.; Speel, E. J.; et al. A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. *Int J Cancer.* 2007;121(11):2465-2472.
314. Smith, E. M.; Ritchie, J. M.; Summersgill, K. F.; Hoffman, H. T.; Wang, D. H.; Haugen, T. H.; Turek, L. P. Human papillomavirus in oral exfoliated cells and risk of head and neck cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(6):449-455.
315. Smith, E. M.; Ritchie, J. M.; Summersgill, K. F.; Klussmann, J. P.; Lee, J. H.; Wang, D. Haugen, T. H.; Turek, L. P. Age, sexual behavior and human papillomavirus infection in oral cavity and oropharyngeal cancers. *Int Journal Cancer.* 2003;108(5):766-772.
316. Snijders, P. J.; Scholes, A. G.; Hart, C. A.; Jones, A. S.; Vaughan, E. D.; Woolgar, J. A.; et al. Prevalence of mucosotropic human papillomaviruses in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *Int J Cancer.* 1996;66(4):464-469.

317. Sobin, L. H.; Gospodarowicz, M. K.; Wittekind, Ch. TNM classification of malignant tumours. 7th ed. Chichester, West Sussex, UK Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2009, 310 s.
318. Speight, P. M.; Morgan, P. R. The natural history and pathology of oral cancer and precancer. *Community Dent Health*. 1993;10 Suppl 1:31-41.
319. Spiro, J. D.; Spiro, R. H.; Shah, J. P.; Sessions, R. B.; Strong, E. W. Critical assessment of supraomohyoid neck dissection. *Am J Surg*. 1988;156(4):286-289.
320. Spiro, R. H.; Huvos, A. G.; Wong, G. Y.; Spiro, J. D.; Gnecco, CA, Strong EW. Predictive value of tumor thickness in squamous carcinoma confined to the tongue and floor of the mouth. *Am J Surg*. 1986 Oct;152(4):345-50.
321. Spiro, R. H.; Strong, E. W. Epidermoid carcinoma of the mobile tongue. Treatment by partial glossectomy alone. *Am J Surg*. 1971;122(6):707-710.
322. Stanley, M. Antibody reactivity to HPV E6 and E7 oncoproteins and early diagnosis of invasive cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(1):3-4.
323. Steger, G.; Corbach, S. Dose-dependent regulation of the early promoter of human papillomavirus type 18 by the viral E2 protein. *J Virol*. 1997;71(1):50-58.
324. Stojdl, D. F.; Lichty, B.; Knowles, S.; Marius, R.; Atkins, H.; Sonenberg, N.; Bell, J. C. Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus. *Nat Med*. 2000;6(7):821-825.
325. Strieder, T. G. A.; Prummel, M. F.; Tijssen, J. G.; Endert, E.; Wiersinga, W. M. Risk factors and prevalence of thyroid disorders among healthy female relatives of patients with autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;59(3):396-401.
326. Stubenrauch, F.; Laimins, L. A. Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Semin Cancer Biol*. 1999;9(6):379-386.
327. Sugeran, P. B.; Joseph, B. K.; Savage, N. W. Review article: The role of oncogenes, tumour suppressor genes and growth factors in oral squamous cell carcinoma: a case of apoptosis versus proliferation. *Oral Dis*. 1995;1(3):172-188.
328. Surks, M. I.; Ortiz, E.; Daniels, G. H.; et al. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA*. 2004;291(13):239-243.
329. Suzuki, K.; Chen, R. B.; Nomura, T.; Nakajima, T. Flow cytometric analysis of primary and metastatic squamous cell carcinomas of the oral and maxillofacial region. *J Oral Maxillofac Surg*. 1994;52(8):855-861; discussion 861-862.
330. Syrjanen, K.; Syrjanen, S.; Lamberg, M.; Pyrhonen, S.; Nuutinen, J. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis. *Int J Oral Surg*. 1983;12(6):418-424.
331. Šlampa, P.; Petera, J. a kol. *Radiační onkologie*. Praha: Karolinum, 2007, 457 s.
332. Šlampa, P.; Soumarová, R.; Kocáková, I.; et al. *Konkomitantní chemoradioterapie solidních nádorů*. 1. vyd. Praha: Galén, 2005, 167 s.
333. Takashima, S.; Sone, S.; Horii, A.; Okamoto, S.; Yoshida, J. Major salivary gland lesions: correlation of MR findings with flow cytometric DNA analysis and prognosis. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;167(5):1297-1304.
334. Talacko, A. A.; Teo, C. G.; Griffin, B. E.; Johnson, N. W. Epstein-Barr virus receptors but not viral DNA are present in normal and malignant oral epithelium. *J Oral Pathol Med*. 1991;20(1):20-25.
335. Talamini, R.; Bosetti, C.; La Vecchia, C.; Dal Maso, L.; Levi, F.; Bidoli, E.; et al. Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: a case-control study. *Cancer Causes Control*. 2002;13(10):957-964.
336. Talmi, Y. P.; Finkelstein, Y.; Zohar, Y. Pharyngeal fistulas in postoperative hypothyroid patients. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1989;98(4 Pt 1):267-8.
337. Tami, T. A.; Gomez, P.; Parker, G. S.; Gupta, M. B.; Frassica, D. A. Thyroid dysfunction after radiation therapy in head and neck cancer patients. *Am J Otol*. 1992;13(6):357-362.
338. Taylor, J. M.; Withers, H. R.; Mendenhall, W. M. Dose-time considerations of head and neck squamous cell carcinomas treated with irradiation. *Radiother Oncol*. 1990;17(2):95-102.

339. Teichgraeber, J. F.; Clairmont, A. A. The incidence of occult metastases for cancer of the oral tongue and floor of the mouth: treatment rationale. *Head Neck Surg.* 1984;7(1):15-21.
340. Tell, R.; Sjodin, H.; Lundell, G.; Lewin, F.; Lewensohn, R. Hypothyroidism after external radiotherapy for head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1997;39(2):303-308.
341. Ter-Pogossian, M. M.; Phelps, M. E.; Hoffman, E. J.; Mullani, N. A. A positron-emission transaxial tomograph for nuclear imaging (PETT). *Radiology.* 1975;114(1):89-98.
342. Thorne, S. H.; Negrin, R. S.; Contag, CH. Synergistic antitumor effects of immune cellviral biotherapy. *Science.* 2006;311(5768):1780-1784.
343. Tong, X.; Howley, P. M. The bovine papillomavirus E6 oncoprotein interacts with paxillin and disrupts the actin cytoskeleton. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94(9):4412-4417.
344. Torre, R.; Del Monte, P.; Bernasconi, D.; et al. Screening for thyroid disease in elderly patients. *Recenti Prog Med.* 2004;95(6):308-311.
345. Trimboli, P.; Giovanella, L.; Crescenzi, A.; Romanelli, F.; Valabrega, S.; Spriano, G.; Cremonini, N.; Guglielmi, R.; Papini, E. Medullary thyroid cancer diagnosis: an appraisal. *Head Neck.* 2014;36(8):1216-1223.
346. Trojan, S. *Lékařská fyziologie. 4. vyd. přepr. a dopl.* Praha: Grada Publishing, 2003, 771 s.
347. Tsai, T. C.; Chen, S. L. The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Arch Virol.* 2003; 148(8):1445-1453.
348. Turner, S. L.; Tiver, K. W.; Boyages, S. C. Thyroid dysfunction following radiotherapy for head and neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;31(2):279-283.
349. Turner, S. L.; Slevin, N. J.; Gupta, N. K.; Swindell, R. Radical external beam radiotherapy for 333 squamous carcinomas of the oral cavity--evaluation of late morbidity and a watch policy for the clinically negative neck. *Radiother Oncol.* 1996;41(1):21-29.
350. Ulger, S.; Ulger, Z.; Yildiz, F.; Ozyar, E. Incidence of hypothyroidism after radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma. *Med Oncol.* 2007;24(1):91-94.
351. Unger, K. R.; Lominska, C. E.; Deeken, J. F.; Davidson, B. J.; Newkirk, K. A.; Gagnon, G. J.; Hwang, J.; Slack, R. S.; Noone, A. M.; Harter, K. W. Fractionated stereotactic radiosurgery for reirradiation of head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2010;77(5):1411-1419
352. van den Bogaert, W.; van der Schueren, E.; Horiot, J. C.; de Vilhena, M.; Schraub, S.; Svoboda, V.; Arcangeli, G.; De Pauw, M.; Van Glabbeke, M. The EORTC randomized trial on three fractions per day and misonidazole (trial no. 22811) in advanced head and neck cancer: long-term results and side effects. *Radiother Oncol.* 1995;35(2):91-99.
353. van der Riet, P.; Nawroz, H.; Hruban, R. H.; Corio, R.; Tokino, K.; Koch, W.; Sidransky, D. Frequent loss of chromosome 9p21-22 early in head and neck cancer progression. *Cancer Res.* 1994;54(5):1156-1158.
354. van der Wal, A. M.; Bakker, O.; Wiersinga, W. M. The decrease of liver LDL receptor mRNA during fasting is related to the decrease in serum T3. *Int J Biochem Cell Biol.* 1998;30(2):209-215.
355. van Dyke, D. L.; Worsham, M. J.; Benninger, M. S.; Krause, C. J.; Baker, S. R.; Wolf, G. T.; Drumheller, T.; Tilley, B. C.; Carey, T. E. Recurrent cytogenetic abnormalities in squamous cell carcinomas of the head and neck region. *Genes Chromosomes Cancer.* 1994;9(3):192-206.
356. van Waes, C.; Surh, D. M.; Chen, Z.; Kirby, M.; Rhim, J. S.; Brager, R.; Sessions, R. B.; Poore, J.; Wolf, G. T.; Carey, T. E. Increase in suprabasilar integrin adhesion molecule expression in human epidermal neoplasms accompanies increased proliferation occurring with immortalization and tumor progression. *Cancer Res.* 1995;55(22):5434-5444.
357. Varghese, S.; Rabkin, S. D. Oncolytic herpes simplex virus vectors for cancer virotherapy. *Cancer Gene Ther* 2002;9(12):967-978.
358. Vidal, L.; Gillison, M. L. Human Papillomavirus in HNSCC: Recognition of a Distinct Disease Type. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2008;22(6):1125-1142.
359. Vikram, B.; Strong, E. W.; Shah, J.; Spiro, R. H. Elective postoperative radiation therapy in stages III and IV epidermoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg.* 1980;140(4):580-584.
360. Virgilio, L.; Shuster, M.; Gollin, S. M.; Veronese, M. L.; Ohta, M.; Huebner, K.; Croce, C. M. FHIT gene alterations in head and neck squamous cell carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(18):9770-9775.



361. Vlček, P.; Neumann, J. Karcinom štítné žlázy: pooperační sledování nemocných. Praha: Maxdorf, 2002, 218 s.
362. Vondra, K.; Vrbíková, J.; Sterzl, I.; Bílek, R.; Vondrová, M.; Zamrazil, V. Thyroid antibodies and their clinical relevance in young adults with type I diabetes during the first 12 years after diabetes onset. *J Endocrinol Invest.* 2004;27(8):728-732.
363. Voynov, G.; Heron, D. E.; Burton, S.; Grandis, J.; Quinn, A.; Ferris, R.; Ozhasoglu, C.; Vogel, W.; Johnson, J. Frameless stereotactic radiosurgery for recurrent head and neck carcinoma. *Technol Cancer Res Treat.* 2006;5(5):529-535.
364. Vrabc, D. P.; Heffron, T. J. Hypothyroidism following treatment for head and neck cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1981;90(5 Pt 1):449-53.
365. Wang, C. C.; Blitzer, P. H.; Suit, H. D. Twice-a-day radiation therapy for cancer of the head and neck. *Cancer.* 1985;55(9):2100-2104.
366. Warnakulasuriya, K. A.; Johnson, N. W. Importance of proliferation markers in oral pathology. *Curr Top Pathol.* 1996;90:147-177.
367. Weeks, I.; Sturgess, M.; Brown, R. C.; Woodhead, J. S. Immunoassays using acridinium esters. *Methods Enzymol.* 1986;133:366-387.
368. Weissler, M. C.; Berry, B. W. Thyroid-stimulating hormone levels after radiotherapy and combined therapy for head and neck cancer. *Head Neck.* 1991;13(5):420-423.
369. Wentzensen, N.; Vinokurova, S.; Von Knebel Doeberitz, M. (2004). Systematic review of genomic integration sites of human papillomavirus genomes in epithelial dysplasia and invasive cancer of the female lower genital tract. *Cancer Res.* 64(11):3878-3884.
370. Werness, B. A.; Levine, A. J.; Howley, P. M. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science.* 1990;248(4951):76-79.
371. West, C. M. Invited review: intrinsic radiosensitivity as a predictor of patient response to radiotherapy. *Br J Radiol.* 1995;68(812):827-837.
372. White, A. E.; Livanos, E. M.; Tlsty, T. D. Differential disruption of genomic integrity and cell cycle regulation in normal human fibroblasts by the HPV oncoproteins. *Genes Dev.* 1994;8(6):666-677.
373. Wiest, J. S.; Franklin, W. A.; Otsot, J. T.; Forbey, K.; Varella-Garcia, M.; Rao, K.; Drabkin, H.; Gemmill, R.; Ahrent, S.; Sidransky, D.; Saccomanno, G.; Fountain, J. W.; Anderson, M. W. Identification of a novel region of homozygous deletion on chromosome 9p in squamous cell carcinoma of the lung: the location of a putative tumor suppressor gene. *Cancer Res.* 1997;57(1):1-6.
374. Williams, E. D. TSH and thyroid cancer. *Horm Metab Res Suppl* 1990;23:72-75.
375. Wiseman, S. M.; Swede, H.; Stoler, D. L.; Anderson, G. R.; Rigual, N. R.; Hicks, W. L.; Douglas, W. G.; Tan, D.; Loree, T. R. Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck in Nonsmokers and Nondrinkers: An Analysis of Clinicopathologic Characteristics and Treatment Outcomes. *Ann Surg Oncol.* 2003;10(5):551-7.
376. Withers, H. R. Biological bases for modifying conventional fractionation regimens in radiotherapy. *Strahlentherapie.* 1984;160(11):670-677.
377. Withers, H. R.; Taylor, J. M.; Maciejewski, B. The hazard of accelerated tumor clonogen repopulation during radiotherapy. *Acta Oncol.* 1988;27(2):131-146.
378. Wong, W. L.; Chevretton, E. B.; McGurk, M.; Hussain, K.; Davis, J.; Beaney, R.; Baddeley, H.; Tierney, P.; Maisey, M. A prospective study of PET-FDG imaging for the assessment of head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci.* 1997;22(3):209-214.
379. Woolgar, J. A. Detailed topography of cervical lymph-node metastases from oral squamous cell carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1997;26(1):3-9.
380. Wu, C. L.; Sloan, P.; Read, A. P.; Harris, R.; Thakker, N. Deletion mapping on the short arm of chromosome 3 in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer Res.* 1994;54(24):6484-6488.
381. Wu, F. B.; Han, S. Q.; Xu, T.; He, Y. F. Sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for simultaneous detection of serum thyroid-stimulating hormone and total thyroxine with Eu and Sm as labels. *Anal Biochem.* 2003;314(1):87-96.
382. Wynder, E. L.; Bross, I. J. Aetiological Factors in Mouth Cancer. *BMJ.* 1957;1(5028):1137-1143.

383. Yasumura, S.; Hirabayashi, H.; Schwartz, D. R.; Toso, J. F.; Johnson, J. T.; Herberman, R. B.; Whiteside, T. L. Human cytotoxic T-cell lines with restricted specificity for squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res.* 1993;53(6):1461-1468.
384. Yazici, M.; Gorgulu, S.; Sertbas, Y.; et. al. Effects of thyroxine therapy on cardiac function in patients with subclinical hypothyroidism: index of myocardial performance in the evaluation of left ventricular function. *Int J Cardiol.* 2004;95(2):135-143.
385. Yeudall, W. A.; Torrance, L. K.; Elsegood, K. A.; Speight, P.; Scully, C.; Prime, S. S. Ras gene point mutation is a rare event in premalignant tissues and malignant cells and tissues from oral mucosal lesions. *Eur J Cancer B Oral Oncol.* 1993;29(1):63-67.
386. Yoo, G. H.; Xu, H. J.; Brennan, J. A.; Westra, W.; Hruban, R. H.; Koch, W.; Benedict, W. F.; Sidransky, D. Infrequent inactivation of the retinoblastoma gene despite frequent loss of chromosome 13q in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1994;54(17):4603-4606.
387. Zaboikin, M.; Srinivasakumar, N.; Schuening, F. Gene therapy with drug resistance genes. *Cancer Gene Ther.* 2006;13(4):335-345.
388. Zerfass-Thome, K.; Zwerschke, W.; Mannhardt, B.; Tindle, R.; Botz, J. W.; Jansen-Durr, P. Inactivation of the cdk inhibitor p27KIP1 by the human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein. *Oncogene.* 1996;13(11):2323-2330.
389. Zima, T. a kol.: *Laboratorní diagnostika, 2. doplněné a přepracované vydání.* Praha: Galén, 2007, 906 s.
390. Zohar, Y.; Tovim, R. B.; Laurian, N.; Laurian, L. Thyroid function following radiation and surgical therapy in head and neck malignancy. *Head Neck.* 1984;6(5):948-952.
391. zur Hausen, H. Papillomaviruses causing cancer: evasion from host-cell control in early events in carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(9):690-698.
392. zur Hausen, H.; De Villiers, E. M. Human papillomaviruses. *Ann Rev Microbiol.* 1994;48:427-447.

## **Poděkování**

Tuto dizertační práci bych rád věnoval svému zesnulému příteli MUDr. Jiřímu Walterovi, Ph.D., jenž stál na počátku jejího vzniku. Poděkování patří mému školiteli MUDr. Danielu Hrušákovi, Ph.D. za vytvoření vhodných podmínek k dopsání práce, umožnění publikační činnosti a odborné vedení během mého studia.

Přednostovi Stomatologické kliniky doc. MUDr. Antonínu Zichovi, CSc. děkuji za záštitu a organizaci postgraduálního vzdělávání na Stomatologické klinice LF UK v Plzni. Za celoživotní podporu vědy a výzkumu děkuji též prof. MUDr. Janu Kiliánovi, DrSc.

V neposlední řadě zasluhují dík moji rodiče a manželka, kteří jsou mi oporou.